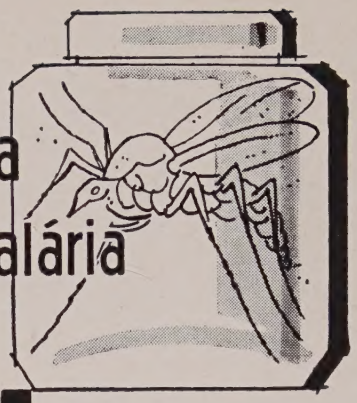
CSA-121

REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

v. Inst. Med. trop. São Paulo, vol. 1, n.° 2, p. 85-178 ★ Julho/Agosto, 1959

Notável Conquista na Quimioterapia da Malária



PLAQUINOL

(SULFATO DE HIDROXICLOROQUINA)

- "As contagens realizadas cada 12 horas, demonstraram ser o decréscimo de parasitos bastante acentuado já às primeiras 12 horas, e pràticamente negativas, em todos os casos, após 24 horas, com exceção dos gametócitos de Pl. Falciparum ainda presentes durante quatro dias". Treviño Villaseñor - Gac. Med. Mae., 83:469, nov./dez. 1953.

- "A tolerância de Plaquinol é perfeita... pode-se concluir que o Plaquinol é, realmente, um esquizonticida potente, mas também gameticida, atóxico e efetivo no tratamento das infecções palúdicas produzidas pelo P Vivax e P. Falciparum"
  Durval Lucena (Recife) - Brasil Médico, n.os. 5/8, fevereiro 1958.

Comprimidos contendo 0,400 g de sulfato hidroxicloroquina equivalentes a 0,300 g de hidroxicloroquina base. Caixas de 5 e de 30 comprimidos.

AMOSTRAS À DISPOSIÇÃO DOS SENHORES MÉDICOS

PLAQUINOL MARCA REGISTRADA é um produto **WINTHROP**

The Sydney Ross Co. - Av. Rio Branco, 251-11.º - Rio de Janeiro - Brasil

REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

DIRETOR RESPONSÁVEL E EDITOR

Luís Rey

DIREÇÃO CIENTÍFICA

Antônio Dácio Franco do Amaral
Carlos da Silva Lacaz
João Alves Meira

CONSELHO DE REDAÇÃO

Alberto Carvalho da Silva
Antônio Barros de Ulhôa Cintra
Celeste Fava Netto
José Fernandes Pontes
José Maria Ferreira
José de Oliveira Coutinho
Leônidas de Mello Deane
Luiz Hildebrando Pereira da Silva
Michel Jamra
Samuel Barnsley Pessôa
Thales de Brito

Redatora-Secretária: Maria Helena Rodrigues Muus

Gerente Comercial: Américo Moreira Junior

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO — BRASIL
FACULDADE DE MEDICINA
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
(Diretor: Prof. C. S. Lacaz)

VERMICLASE

Hexahidrato de piperazina

EFICIENTE:

97% de curas na Oxiuriase
100% de curas na Ascaridiase

PALADAR AGRADAVEL

ATÓXICO

NÃO É E NEM NECESSITA

PURGATIVO

PRÁTICO:

cada vidro é acompanhado de tabela e copinho graduado, baseado no critério do PESO e não na IDADE do doente.

Biosintética Ltda.

Rua Teixeira Leite, 498 — Fone: 34-0535 — São Paulo

REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo	Vol. 1	N.º 2	p. 85-178	Julho/Agôsto, 1959

SUMÁRIO

GALERIA DE TROPICALISTAS BRASILEIROS

Manuel Augusto Pirajá da Silva 85

ARTIGOS ORIGINAIS

Estudos sôbre a mortalidade por várias causas no Município de São Paulo. II. Tétano. — A. W. SCHMID 89

Observações sôbre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. — L. H. PEREIRA DA SILVA 99

Observações sôbre o diagnóstico da toxoplasmose crônica no camundongo. — M. P. DEANE e R. S. NUSSENZWEIG 119

A reação de precipitação periovular na esquistossomose. II. Correlação aos dados clínicos. — K. KLOETZEL 129

Diagnóstico da estrongiloidíase. Modificações do método de Baerman-Morais. — F. FERRAIOLLI FILHO 138

Culex (*Culex*) *deanei*, nova espécie do gênero *Culex* Linnaeus, 1758 (*Diptera, Culicidae*). — R. R. CORRÊA e G. R. RAMALHO 141

Moluscos do gênero *Oncomelania*, no Brasil, e sua possível importância epidemiológica. — L. REY 144

CONFERÊNCIAS, SEMINÁRIOS E SIMPÓSIOS

Aspectos clínicos e epidemiológicos das micoses profundas na América do Sul. — C. S. LACAZ 150

As características da medicina, no Brasil, e os problemas da formação e atividades profissionais. — M. PINOTTI 165

NOTICIÁRIO 172

ENDEREÇO:

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Avenida Dr. Adhemar de Barros
Caixa Postal 2921 — São Paulo — Brasil

ASSINATURAS:

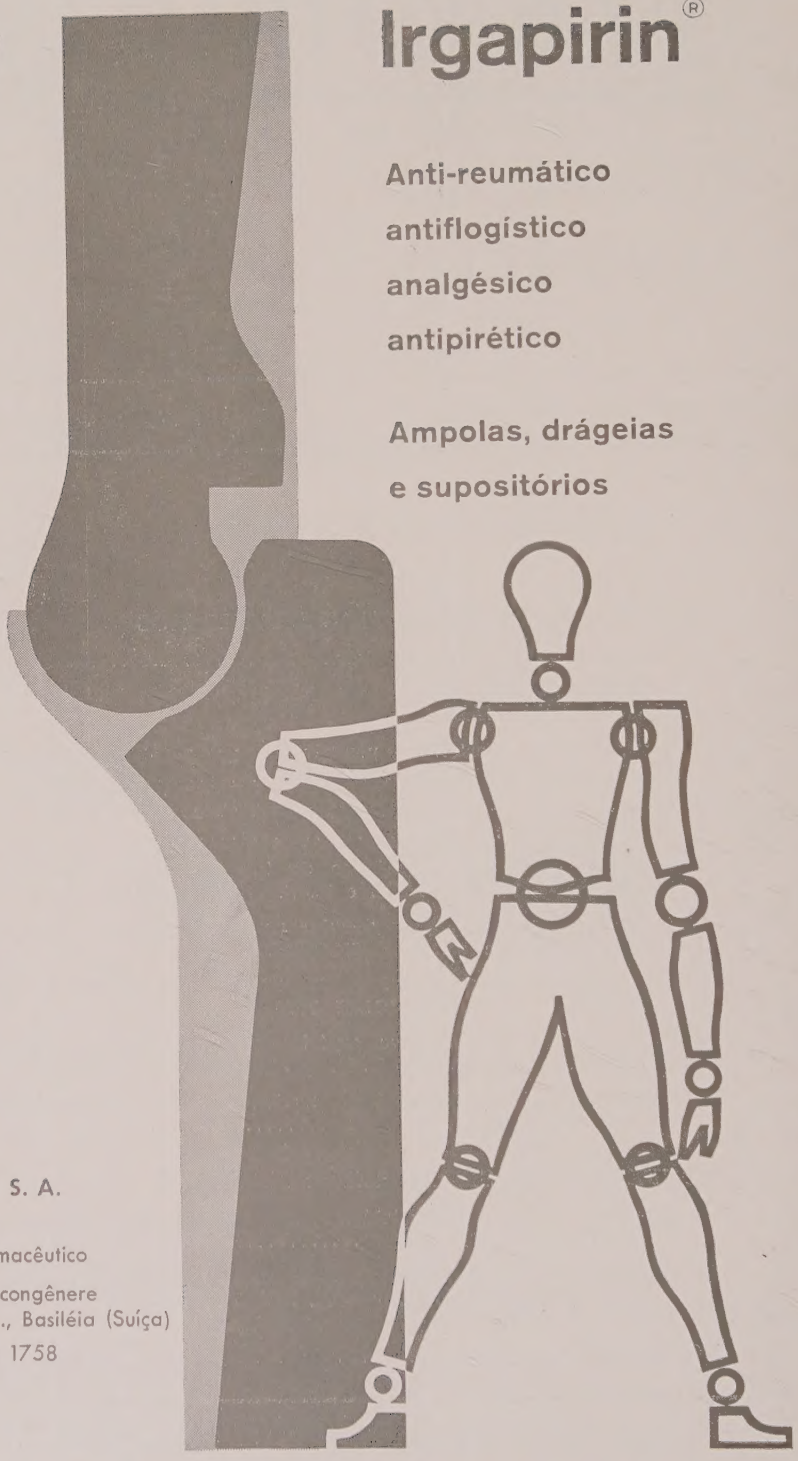
No Brasil ..... Cr$ 500,00
Nº avulso ..... Cr$ 100,00
No Exterior ..... US$ 8,00

Geigy

Irgapirin®

Anti-reumático
antiflogístico
analgésico
antipirético

Ampolas, drágeias
e supositórios



Geigy do Brasil S. A.
Rio de Janeiro,
Departamento farmacêutico
uma organização congênere
a J. R. Geigy S. A., Basiléia (Suíça)
Casa fundada em 1758

033 Bras 4

REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo	Vol. 1	N.º 2	p. 85-178	July/August 1959

CONTENTS

GALLERY OF BRAZILIAN TROPICALISTS

Manuel Augusto Pirajá da Silva 85

ORIGINAL ARTICLES

Studies on the mortality by several causes in the Municipality of São Paulo. II. Tetanus. — A. W. SCHMID 89

Studies on the life cycle of *Trypanosoma cruzi*. — L. H. PEREIRA DA SILVA 99

Observations on the diagnosis of chronic toxoplasma infection in mice. — M. P. DEANE and R. S. NUSSENZWEIG 119

The circumoval precipitation test in schistosomiasis. II. Correlation to clinical data. — K. KLOETZEL 129

Diagnosis of strongyloidiasis. Modifications of the Baermann-Morais technique. — F. FERRAIOLI FILHO 138

Culex (Culex) deanei, new species of the genum *Culex* Linnaeus, 1758 *(Diptera, Culicidae)*. — R. R. CORRÊA and G. R. RAMALHO ... 141

Molluscs of the genus *Oncomelania*, in Brazil, and their possible epidemiological significance. — L. REY 144

SYMPOSIA, LECTURES AND SEMINARS

Clinical and epidemiological aspects of deep mycoses in South America. — C. S. LACAZ 150

Characteristics of medicine in Brazil, and the problems of professional training and activity. — M. PINOTTI 165

NOTICES 172

ADDRESS

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Avenida Dr. Adhemar de Barros
P.O. Box 2921 — São Paulo —— Brazil

SUBSCRIPTIONS

Foreign Countries
One year (6 numbers) .... US$ 8.00
Single number ..... US$ 2.00

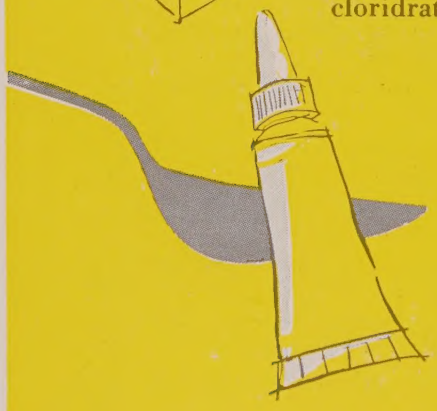
antibiótico Lepetit

de amplo espectro
de largo emprêgo clínico
e de ação rápida e segura
também onde os outros
antibióticos falharam

ambramicina

cloridrato de tetraciclina

Lepetit



em **5** *apresentações*

cápsulas
cápsulas vitaminadas
xarope
injetável
pomada oftálmica

LABORATÓRIOS LEPETIT S. A.
Rua Afonso Celso, 1015 - Tel.: 7-1106/7/8 e 9 - SÃO PAULO

Galeria de Tropicalistas Brasileiros

Manuel Augusto PIRAJÁ DA SILVA

Nascido aos 28 de janeiro de 1873, em Camamu (Bahia), doutorou-se em Medicina em 1896 pela Faculdade da Bahia. Foi assistente da 1ª Cadeira de Clínica Médica (1902-1911), tendo sido nomeado professor ordinário de História Natural Médica (Parasitologia) daquela Faculdade em 1911, cargo que ocupou até sua aposentadoria em 1935.

Fêz, em 1909, o curso de microbiologia no Instituto Pasteur de Paris e o de doenças navais e tropicais no Tropeninstitut de Hamburgo e, em 1911, o do I. M. C. de Paris, sendo classificado em 1º lugar, com o título de *Major*.

Pirajá da Silva estudou todo o grupo das doenças tropicais que grassavam na Bahia, no comêço do século, sendo o pioneiro em identificá-las à luz do microscópio. Contribuiu assim para o esclarecimento da esquistossomose intestinal, da disenteria amebiana, da leishmaniose tegumentar, da doença de Chagas, das miíases, das micoses (blastomicose e maduromicose), do ainhun, etc. Seu trabalho original de maior envergadura foi a descoberta e identificação do *Schistosoma mansoni*, em 1908, com a apresentação, ao mundo científico de então, da primeira descrição completa dêsse parasita, a dirimir a velha e acirrada controvérsia entre as escolas de Medicina Tropical de Londres e do Cairo. Também descobriu e descreveu a cercária do *S. mansoni*, em 1912, antes de se conhecer o ciclo evolutivo dêsse trematódeo.

Colaborou intensamente nos "Archives de Parasitologie" e no "The Journal of Tropical Medicine" de Londres.

Foi inspetor-sanitário-chefe da Profilaxia Rural na Bahia, de 1921 a 1933. Manteve importante intercâmbio científico com o Instituto Butantã, de 1920 a 1924, dirigindo o Pôsto Anti-Ofídico da Bahia. Foi, também, professor de História Natural no Ginásio da Bahia, de 1914 a 1935.

Em 1954, recebeu a Medalha Nocht e, em 1956, a Grã-Cruz da Ordem do Mérito Médico do Brasil. "Doutor honoris causa" pela Universidade de São Paulo e Professor de igual categoria pela Escola de Medicina e Saúde Pública da Bahia.

Analisou as obras de Martius e de Gabriel Soares, apresentando exaustivas contribuições pessoais sôbre ambas.

Vive atualmente em São Paulo, com 86 anos.

Gallery of Brazilian Tropicalists

Manuel Augusto PIRAJÁ DA SILVA

Pirajá da Silva was born January 28th, 1873, in Camamu (Bahia) and graduated 1896 in Medicine from the School of Medicine of Bahia. He was Assistant Professor of the First Department of Clinical Medicine (1902-1911), being appointed Ordinary Professor of Medical Natural History (Parasitology) of the same School in 1911. As such he remained until his retirement in 1935.

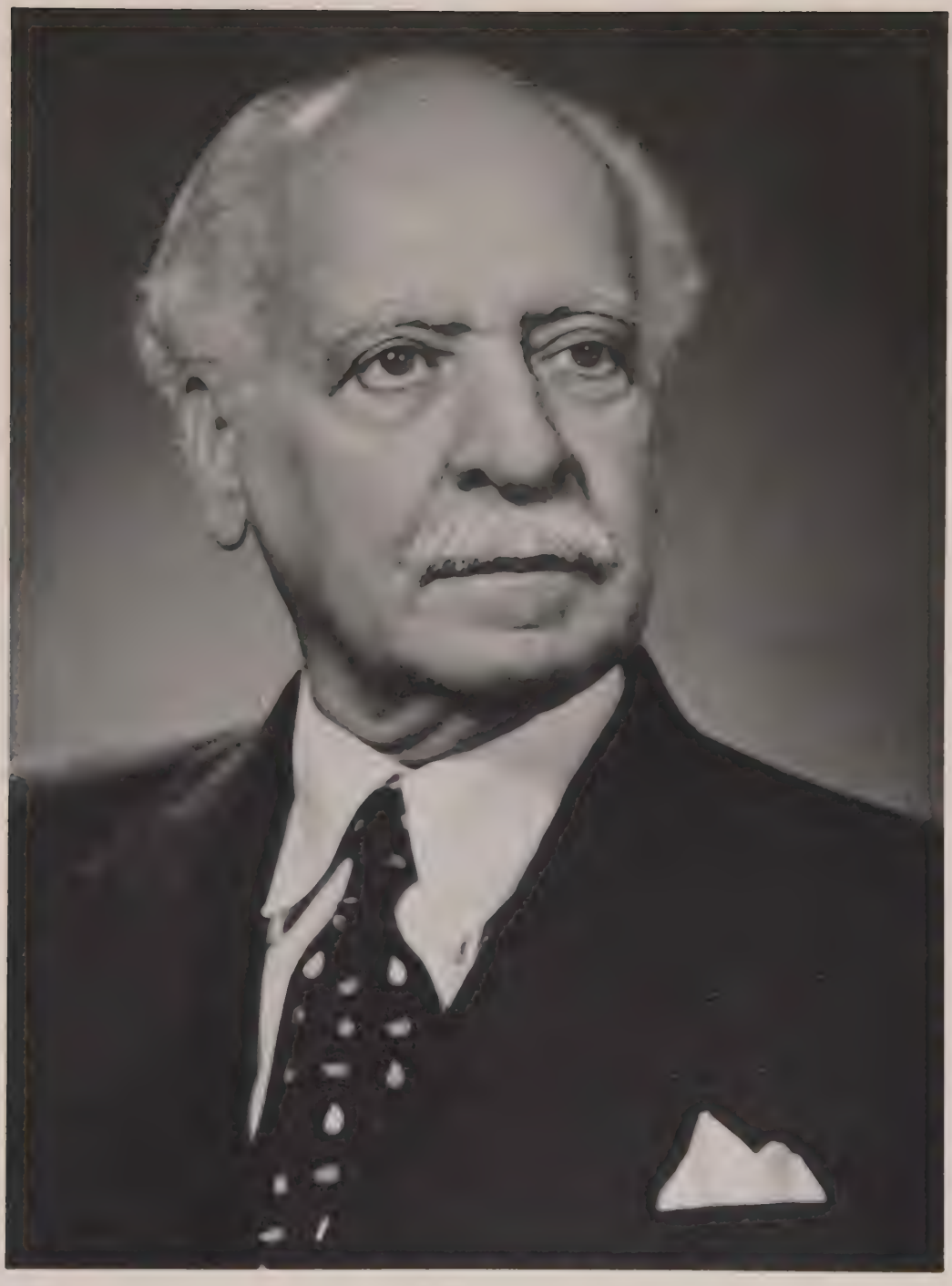
In 1909 he attended the course on Microbiology of the Institut Pasteur of Paris, as well as the one on Tropical and Naval Diseases of the Tropeninstitut in Hamburg. Further on, in 1911, he attended the I. M. C. course in Paris, having gotten first honours with the title of *Major*.

Pirajá da Silva studied all the tropical diseases that raged in Bahia at the beginning of the century. He was a pioneer concerning the microscopical identification, thus contributing to the knowledge of the intestinal schistosomiasis, amoebic dysentery, cutaneous leishmaniasis, Chagas' disease, myiases, mycoses (blastomycosis and maduromycosis), ainhum and others. His most important original contribution to science was the discovery and identification of the *Schistosoma mansoni* in 1908, presenting the extant scientific world with the first complete description of the parasite. Thus an ancient and violent controversy between the London and the Cayro schools of tropical medicine was settled. The cercaria of the *S. mansoni* was also discovered by him in 1912, before the evolutive cycle of this trematode was known. He also contributed extensively to the "Archives de Parasitologie" of Paris and to the "Journal of Tropical Medicine" of London.

From 1921 to 1933 Pirajá da Silva was Chief Sanitary Inspector of Rural Prophylaxis in Bahia. From 1920 to 1924, while Director of the Anti-Ophidic Center of Bahia, he carried out an important scientific exchange with the Instituto Butantã of São Paulo. The High School of Bahia had him as Professor of Natural History from 1914 to 1935.

In 1954 Pirajá da Silva was awarded the Nocht Medal and, in 1956, the Cross of the Order of Medical Merit of Brazil. He is a Doctor *honoris causa* of the São Paulo University as well as Professor *honoris causa* also of the School of Medicine and Public Health of Bahia.

Aged 86, Pirajá da Silva lives at present in São Paulo.



Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):89-98, julho-agôsto 1959

ESTUDOS SÔBRE A MORTALIDADE POR VÁRIAS CAUSAS NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO. II. TÉTANO

Ary Walter Schmid [1]

RESUMO

Em São Paulo, do mesmo modo que em outras capitais brasileiras, o tétano é um problema importante, devido ao número de óbitos que provoca, especialmente entre os recém-nascidos.

A mortalidade proporcional da doença está em ascensão e a mortalidade, nos últimos anos, apresenta uma tendência à horizontalidade, neste município. Êstes fatos contrastam com o que se observa na maioria das doenças transmissíveis, que apresentam declínio nítido da mortalidade e da mortalidade proporcional.

Grande proporção de óbitos por tétano ocorreu no primeiro ano de vida: 63,93% do total, entre 1948 e 1957. Em infantes, verifica-se que a quase totalidade se deu em recém-nascidos. Êstes dados vêm reforçar a opinião de vários autores nacionais de que o tétano umbilical é um grave problema de Saúde Pública no Brasil.

No decênio 1948-1957, o sexo masculino mostrou maior mortalidade que o feminino em tôdas as idades. As várias raças apresentaram mortalidade em nível semelhante, com exceção dos pardos, que tinham coeficientes muito mais elevados que os demais grupos.

O autor verificou pequena variação mensal dos óbitos por tétano neste município, de 1948 a 1957, o que indica ser constante a exposição do homem aos esporos tetânicos existentes no solo.

Finalmente, recomenda como medidas principais de combate ao tétano néonatorum a educação sanitária das gestantes e das "curiosas" (enquanto não houver parteiras diplomadas e enfermeiras de Saúde Pública em número suficiente) e a vacinação das gestantes com anatoxina tetânica.

INTRODUÇÃO

Neste trabalho discutiremos alguns dados sôbre a mortalidade por tétano no Município de São Paulo, relacionando-a a determinados atributos da população, a fim de que se tenham mais elementos para planejar uma profilaxia adequada da doença.

Com o tétano ocorre fato curioso e lamentável: os óbitos se sucedem em grande número, principalmente entre os recém-nascidos, na zona rural, e poucos são os que o consideram como problema de Saúde Pública. Êle é olvidado pelos sanitaristas, esquecido pelos clínicos e não considerado pelo povo. O tétano dos recém-nascidos, "mal de sete dias", é olhado mais como fatalidade ou castigo divino que como doença que pode e deve ser prevenida. Êste desprêzo absurdo pelo tétano é evidenciado até em nosso Código Sanitário, que não o inclui entre as moléstias de notificação compulsória. Felizmente, parece que já se está começando a levar em consideração esta doença, tanto que no projeto do novo Código Sanitário do Es-

Fac. Hig. e Saúde Públ. da Univ. São Paulo. Cadeira de Epidemiol. e Profilaxia (Prof. A. L. Ayroza Galvão).

(1) Assistente.

tado de São Paulo [3] o tétano neo-natorum é colocado entre as moléstias que devem ser notificadas às autoridades sanitárias.

Em nosso meio, os trabalhos a respeito da importância do tétano como causa de morte são bastante raros. Entre êles, temos os de MATTOS & col.[6] e de GALVÃO [4], que apresentam dados sôbre o tétano umbilical em capitais brasileiras e nos municípios do Estado de São Paulo, sublinhando a importância da moléstia como causa de óbito em recém-nascidos. VERONESI [10] aponta também a gravidade do tétano, especialmente do neo-natorum, entre nós.

tes por tôdas as causas, no Município de São Paulo, é relativamente baixa. Também aqui se nota uma tendência à ascensão, nos últimos qüinqüênios, o que indica um aumento relativo da importância do tétano como causa de morte entre nós.

Em 1957, último ano do período em estudo, esta moléstia apresentava a mortalidade proporcional de 0,43%, ocupando o 34º lugar como causa de óbito. Portanto, considerando-se os óbitos em tôdas as idades e, em contraste com outras doenças [9], é antes o aumento da mortalidade proporcional do tétano

QUADRO I

Tendência da mortalidade por tétano, em tôdas as idades, em 11 capitais brasileiras, no período 1942-1951

Capitais com tendência ao aumento		*Capitais com tendência à diminuição*	
Salvador	y = 21,39 + 0,33 x	Niterói	y = 9,82 — 0,25 x
Belém	y = 14,71 + 0,20 x	Pôrto Alegre	y = 6,18 — 0,18 x
Recife	y = 5,25 + 1,03 x	Belo Horizonte	y = 3,31 — 0,02 x
Distrito Federal	y = 10,01 + 0,31 x	Curitiba	y = 3,02 — 0,00 x
Teresina	y = 2,62 + 0,56 x	Aracaju	y = 9,00 — 0,64 x
São Paulo	y = 4,03 + 0,04 x		

Fonte: Anuário de Biocstatística [1].

Analisando alguns dados estatísticos sôbre o tétano em capitais brasileiras, e ajustando uma reta pelo processo dos menores quadrados aos coeficientes por 100.000 habitantes, para o decênio 1942-1951, verificamos que sua mortalidade apresentava uma tendência ao aumento em várias capitais (quadro I).

Em seis das onze capitais para as quais dispúnhamos de dados havia uma tendência ao aumento da mortalidade por tétano. Em algumas, como Salvador, Maceió, Belém e Vitória, os coeficientes alcançaram o valor de 20 ou mais por 100.000 habitantes, em vários anos do período. Em Vitória, chegou a 38,6 em 1947. Sem dúvida, a mortalidade pela doença é muito mais elevada no Interior dos Estados que nas respectivas capitais, principalmente levando-se em conta a precariedade dos serviços de assistência ao parto.

A. MORTALIDADE PROPORCIONAL NO PERÍODO 1898-1957

Como se observa no quadro II, a percentagem dos óbitos por tétano em relação às mor-

QUADRO II

Mortalidade proporcional por tétano no Município de São Paulo, por qüinqüênios (1898-1957)

Qüinqüênios	*Óbitos por tôdas as causas*	*Óbitos por tétano*	
		Nº	*%*
1898-1902	23.183	71	0,31
1903-1907	24.913	157	0,63
1908-1912	33.281	131	0,39
1913-1917	41.497	137	0,33
1918-1922	58.086	112	0,19
1923-1927	67.398	190	0,28
1928-1932	69.358	239	0,34
1933-1937	75.894	250	0,33
1938-1942	90.562	241	0,27
1943-1947	96.995	370	0,38
1948-1952	111.433	492	0,44
1953-1957	136.087	592	0,44
Total	828.687	2.982	0,36

Fontes: Anuário Demográfico [2] e Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

que o nível dessa mortalidade que deve preocupar os sanitaristas.

B. MORTALIDADE NO PERÍODO 1894-1957

A mortalidade por tétano neste município, considerando-se um longo intervalo de tempo (64 anos), apresenta uma tendência nítida à diminuição. Ajustando-se uma reta a êstes dados pelo processo dos menores quadrados, esta é definida pela equação $y = 7{,}76 - 0{,}07\,x$ (quadro III e fig. 1).

No entanto, uma análise um pouco mais demorada leva-nos à conclusão de que há, na realidade, duas tendências bem distintas: a primeira, do início do século até pouco antes de 1920, em que a mortalidade oscilou grandemente, com acentuada tendência à diminuição; a segunda, de 1920 a 1957, com menores variações nos coeficientes e tendência à horizontalidade. Logo, nos últimos anos não tem havido melhoria quanto à mortalidade por tétano entre nós.

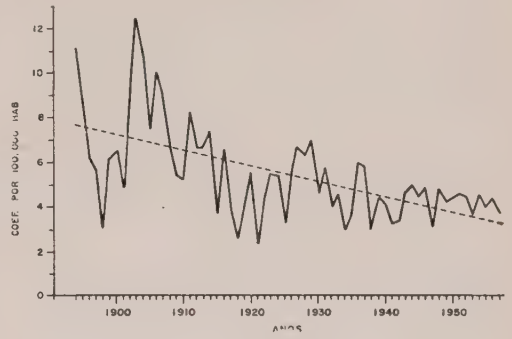


Fig. 1 — Mortalidade por tétano no Município de São Paulo, entre 1894 e 1957.

QUADRO III

Mortalidade por tétano no Município de São Paulo (1894-1957)

Anos	*óbitos*	*Coeficiente por 100.000 hab.*	*Anos*	*óbitos*	*Coeficiente por 100.000 hab.*
1894	14	11,12	1926	43	5,84
1895	12	8,37	1927	51	6,64
1896	10	6,21	1928	50	6,25
1897	10	5,60	1929	58	6,95
1898	6	3,06	1930	40	4,60
1899	13	6,09	1931	53	5,85
1900	15	6,49	1932	38	4,02
1901	12	4,83	1933	46	4,67
1902	25	9,41	1934	30	2,92
1903	35	12,38	1935	40	3,74
1904	32	10,67	1936	67	6,01
1905	24	7,57	1937	67	5,76
1906	34	10,17	1938	36	2,97
1907	32	9,10	1939	57	4,52
1908	25	6,78	1940	54	4,11
1909	21	5,44	1941	45	3,25
1910	21	5,21	1942	49	3,36
1911	35	8,33	1943	71	4,63
1912	29	6,63	1944	81	5,02
1913	30	6,60	1945	73	4,29
1914	35	7,42	1946	87	4,86
1915	18	3,68	1947	58	3,08
1916	33	6,52	1948	96	4,84
1917	21	4,01	1949	87	4,17
1918	14	2,59	1950	95	4,32
1919	24	4,30	1951	106	4,58
1920	32	5,57	1952	108	4,43
1921	14	2,34	1953	91	3,55
1922	28	4,48	1954	123	4,56
1923	36	5,53	1955	117	3,97
1924	37	5,45	1956	136	4,35
1925	23	3,25	1957	125	3,77

Fontes: Anuário Demográfico[2] e Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

Com finalidade comparativa, apresentamos os óbitos por tétano neste município e em vários países, no período 1921-1953 (quadro IV).

QUADRO IV

Óbitos por tétano no Município de São Paulo e em vários países europeus no período 1921-1953

Região	*óbitos por tétano*		
	1921-53	1921	1953
Município de São Paulo	1.915	14	91
Dinamarca	1.865	106	17
Holanda	1.421	42	23
Canadá	1.028	50	12
Suíça	972	40	33
Noruega	337	19	3

Fonte: Rapp. Épidém. & Démogr.[1].

Selecionamos, propositadamente, alguns países que apresentavam menor número de óbitos pela doença que o Município de São Paulo, no período considerado. Com isto, tivemos em mira mostrar que um só município brasileiro, e dos de melhor situação quanto ao tétano, tinha maior número de mortes pela doença que várias nações de população relativamente elevada. Por outro lado, nota-se que neste município o número de óbitos em 1953 foi 6,5 vêzes maior que em 1921, ao passo que os países escolhidos mostravam grande diminuição. Isto indica que um dos municípios mais progressistas do Brasil está, neste particular, em posição extremamente desvantajosa em relação a várias nações, mesmo se considerarmos que sua população cresceu muito mais ràpidamente que a dos países referidos.

C. MORTALIDADE SEGUNDO IDADE E SEXO NO PERÍODO 1948-1957

O quadro V e a fig. 2 mostram claramente que o tétano é, neste município, um problema fundamental nos menores de 1 ano; a mortalidade nos outros grupos etá-

QUADRO V

Mortalidade por tétano no Município de São Paulo, segundo idade e sexo (1948-1957)

Idade em anos	*Masculino*		*Feminino*		*Total*	
	óbitos	*Coef. por 100.000 hab.*	*óbitos*	*Coef. por 100.000 hab.*	*óbitos*	*Coef. por 100.000 hab.*
< 1	414	116,56	279	81,38	693	99,28
1	3	0,96	2	0,66	5	0,82
2	6	2,02	4	1,40	10	1,71
3	7	2,47	4	1,45	11	1,97
4	10	3,91	2	0,81	12	2,39
5- 9	64	5,69	22	1,98	86	3,85
10-14	53	5,10	17	1,56	70	3,29
15-19	11	0,95	6	0,46	17	0,69
20-29	30	1,03	21	0,71	51	0,87
30-39	28	1,42	15	0,75	43	1,08
40-49	21	1,42	8	0,55	29	0,99
50-59	10	1,13	10	1,12	20	1,12
60-69	20	4,73	4	0,82	24	2,63
70-79	8	5,74	4	2,12	12	3,65
80 e +	0	—	1	1,58	1	1,00
Total	685	5,40	399	3,07	1.084	4,22

Fonte: Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

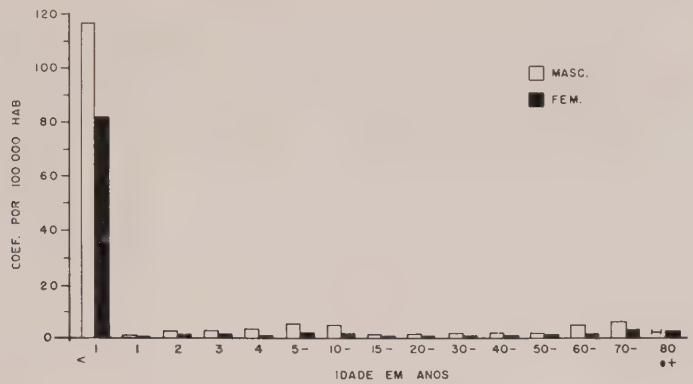


Fig. 2 — Mortalidade por tétano no Município de São Paulo, segundo o sexo e a idade, entre 1948 e 1957.

rios é ínfima quando comparada com esta: no decênio considerado, 693 dos 1.084 óbitos por tétano, ou seja 63,93%, ocorreram em menores de 1 ano. Em várias capitais brasileiras para as quais dispomos de dados, no período 1942-1951, a situação era a mesma (quadro VI).

Unidos, no período 1934-1938, a maior mortalidade verificou-se nos infantes, embora os coeficientes fôssem muito mais baixos que entre nós; a relação entre os coeficientes nos menores de 1 ano e os coeficientes na população geral foi também muito inferior à que observamos.

QUADRO VI

Proporção entre o número de óbitos por tétano em menores de 1 ano e em tôdas as idades e tendência da mortalidade por tétano em menores de 1 ano, em várias capitais brasileiras (1942-1951)

Capital	*óbitos por tétano*			*Tendência da mortalidade nos menores de 1 ano*
	Tôdas as idades	*Menores de 1 ano*		
		Nº	%	
Teresina	48	30	62,50	$y = 1{,}55 + 0{,}38\ x$
Distrito Federal	2.544	1.459	57,35	$y = 2{,}64 + 0{,}09\ x$
São Paulo	803	441	54,92	$y = 0{,}80 + 0{,}02\ x$
Pôrto Alegre	181	62	34,25	$y = 0{,}93 - 0{,}03\ x$
Curitiba	50	14	28,00	$y = 0{,}27 + 0{,}00\ x$
Niterói	143	22	15,38	$y = 1{,}59 - 0{,}18\ x$

Fonte: Anuário de Bioestatística [1].

Portanto, grande percentagem dos óbitos por tétano ocorreu em menores de 1 ano, sendo mesmo superior a 50% em três das seis capitais consideradas. Em quatro, a mortalidade por tétano nos infantes apresentava tendência ao aumento.

Também em outros países é êste o grupo etário mais atingido pela doença. Rosenau [8], por exemplo, mostra que nos Estados

A distribuição dos óbitos por tétano nos menores de 1 ano no Município de São Paulo, de 1950 a 1957 (Quadro VII) revela que a grande maioria se deu no primeiro mês de vida (97,46%); 91,25% dos 596 óbitos pela doença em menores de 1 ano ocorreu em crianças de 0 a 14 dias de idade. Pode-se afirmar, portanto, que o tétano umbilical representa a quase totalidade

dos óbitos pela doença nos menores de 1 ano. Esta verificação tem um valor prático: na maioria dos casos, não há dados numéricos sôbre os óbitos por tétano nos recém-nascidos nos municípios brasileiros, porém encontram-se os relativos aos menores de 1 ano. Êstes poderão ser usados em lugar daqueles, com pequena margem de êrro, permitindo uma avaliação do problema do tétano neonatorum entre nós.

QUADRO VII

Distribuição dos óbitos por tétano nos menores de 1 ano, no Município de São Paulo (1950-1957)

Idade	*óbitos*		*% acumulada*
	Nº	*%*	
< 1 dia	—	—	—
1 "	5	0,84	0,84
2 "	8	1,34	2,18
3 "	25	4,19	6,37
4 "	21	3,52	9,89
5 "	35	5,87	15,76
6 "	64	10,74	26,50
7 "	153	25,67	52,17
8-14 dias	233	39,08	91,25
15-21 "	33	5,54	96,79
22-29 "	4	0,67	97,46
1 mês	6	1,01	98,47
2 meses	2	0,34	98,81
3 "	—	—	98,81
4 "	2	0,34	99,15
5 "	—	—	99,15
6 "	1	0,17	99,32
7 "	2	0,34	99,66
8 "	1	0,17	99,83
9 "	—	—	99,83
10 "	—	—	99,83
11-12 meses	1	0,17	100,00
Total	596	100,00	100,00

Fonte: Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

Segundo os nossos dados, a mortalidade por tétano no Município de São Paulo foi maior, em tôdas as idades, no sexo masculino que no feminino (nos de 80 anos e mais, não houve óbitos naquele e apenas um no feminino, o que não permite chegar a conclusões). No geral, a mortalidade foi de 5,40 por 100.000 habitantes no sexo masculino e 3,07 no outro. Êste fato é uma lei geral na epidemiologia das doenças transmissíveis e apresenta poucas exceções, como a coqueluche que apresenta maior morbidade e mortalidade no sexo feminino.

No caso do tétano, a maior mortalidade no sexo masculino é fàcilmente explicável pela sua maior exposição à doença, devido ao maior contacto com a terra e porque os homens, geralmente, dispensam menores cuidados aos ferimentos que as mulheres. Há, ainda, várias ocupações próprias do sexo masculino, ligadas à terra, como a jardinagem e os trabalhos na lavoura, ou aos animais, como a pecuária, que devem influir para que o homem apresente maior morbidade e mortalidade pelo tétano, sem que seja necessário invocar maior suscetibilidade dêste sexo à doença. Todavia, êste fator pode ter certa influência, porquanto os menores de 1 ano do sexo masculino apresentaram mortalidade sensìvelmente maior que os do feminino: nesta idade, evidentemente, a exposição é igual para ambos os sexos.

Rosenau [8] apresenta dados sôbre os Estados Unidos, de 1934 a 1938, mostrando que também lá a mortalidade por tétano foi duas vêzes mais elevada no sexo masculino que no feminino.

D. MORTALIDADE SEGUNDO CÔR E SEXO NO PERÍODO 1948-1957

Pela inspeção do quadro VIII e da fig. 3, verifica-se que a mortalidade pouco difere nos brancos, amarelos e pretos. Os pardos, ao contrário, têm um coeficiente cêrca de quatro vêzes maior que as demais raças. Isto pode ser devido aos menores cuidados higiênicos neste grupo populacional e às precárias condições em que os partos são realizados, o que é conseqüência de seu baixo nível sócio-econômico. No entanto, deveríamos ter altos coeficientes para os pretos, pelo mesmo motivo, o que não ocorreu. Por isto, devem-se procurar outros fatôres que expliquem esta diferença: dentre êstes, um seria constituído pelos erros na classificação dos

QUADRO VIII

Mortalidade por tétano no Município de São Paulo, segundo côr e sexo (1948-1957)

Côr	Masculino		Feminino		Total	
	óbitos	Coef. por 100.000 hab.	óbitos	Coef. por 100.000 hab.	óbitos	Coef. por 100.000 hab.
Branca	517	4,62	300	2,64	817	3,62
Amarela	19	7,40	7	3,08	26	5,37
Preta	67	7,41	41	3,81	108	5,45
Parda	82	26,11	51	15,34	133	20,57
Total	685	5,40	399	3,07	1.084	4,22
Preta + Parda ...	149	12,23	92	6,53	241	9,17

Fonte: Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

indivíduos quanto à côr, mais comuns em relação aos pardos que aos demais grupos. Juntando-se os pretos e pardos a fim de diminuir, em parte, esta causa de êrro, subsiste a mortalidade muito mais elevada neste que nos outros grupos raciais.

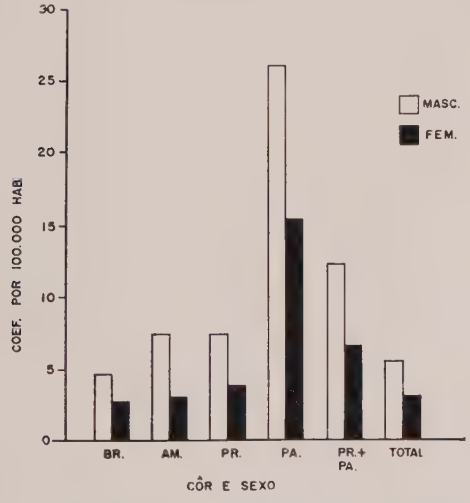


Fig. 3 — Mortalidade por tétano no Município de São Paulo, segundo a côr e o sexo, entre 1948 e 1957.

Segundo Rosenau [8], a mortalidade por tétano nos Estados Unidos, no período 1934-1938, apresenta níveis muito mais elevados nos não brancos que nos brancos (cêrca de três vêzes mais), em ambos os sexos e em todos os grupos etários, tal como pudemos comprovar em São Paulo.

E. DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS ÓBITOS NO PERÍODO 1948-1957

Não existe uma preferência marcada para determinado mês (Quadro IX e Fig. 4), pois a percentagem mais elevada, para todo o decênio, verificou-se no mês de maio (11,1%), diferindo pouco da menor proporção encontrada (6,6% no mês de junho).

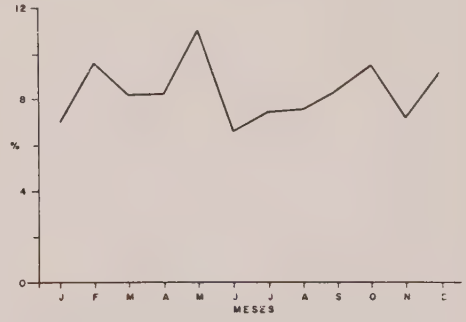


Fig. 4 — Distribuição mensal dos óbitos por tétano no Município de São Paulo, entre 1948 e 1957.

Isto indica que a exposição à doença, em nosso meio, é mais ou menos igual durante todo o ano: realmente, como o esporo tetâ-

QUADRO IX

Distribuição mensal dos óbitos por tétano no Município de São Paulo (1948-1957)

Anos	*Jan.*	*Fev.*	*Mar.*	*Abr.*	*Mai.*	*Jun.*	*Jul.*	*Ago.*	*Set.*	*Out.*	*Nov.*	*Dez.*	*Total*
1948	6	12	5	10	13	3	8	8	6	11	7	7	96
1949	5	12	8	5	11	3	12	4	5	8	4	10	87
1950	10	3	14	4	13	4..	7	11	10	7	4	8	95
1951	5	7	11	13	5	12	4	5	13	5	8	18	106
1952	12	10	8	8	6	8	7	5	5	16	13	10	108
1953	5	7	4	11	13	9	8	3	8	11	4	8	91
1954	7	16	13	7	14	7	6	8	12	8	13	12	123
1955	6	11	9	7	15	12	7	14	10	11	7	8	117
1956	9	14	7	14	20	9	11	16	10	8	8	10	136
1957	11	13	10	10	10	5	11	8	11	18	10	8	125
Total	76	105	89	89	120	72	81	82	90	103	78	99	1.084
%	7,0	9,7	8,2	8,2	11,1	6,6	7,5	7,6	8,3	9,5	7,2	9,1	100,0

Fonte: Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (DEESP).

QUADRO X

Número máximo e mínimo de óbitos por tétano em várias capitais brasileiras, no período 1942-1951, e respectiva razão

Capital	*Número máximo de óbitos*		*Número mínimo de óbitos*		$\frac{Máximo}{Mínimo}$
Distrito Federal	Março e outubro	237	Agôsto	174	1,36
São Paulo	Maio	84	Abril	57	1,47
Salvador	Maio	101	Agôsto	45	2,24
Belém	Junho	42	Fevereiro	18	2,33
Recife	Março	64	Junho	25	2,56
Pôrto Alegre	Dezembro	27	Agôsto	7	3,86

Fonte: Anuário de Bioestatística [1].

nico permanece viável durante vários anos no solo e como não temos inverno rigoroso que poderia dificultar o contacto do homem com a terra, a distribuição mensal que encontramos era esperada. Em várias capitais brasileiras, no período 1942-1951, foi também pequena a diferença encontrada entre o mês com o maior número de óbitos por tétano e o de menor número, confirmando o que encontramos para o Município de São Paulo (Quadro X).

CONCLUSÕES

Dêste nosso trabalho ressalta a grande importância do tétano como causa de morte em

recém-nascidos, em nosso meio. Para prevení-lo, podemos esquematizar as medidas de maneira semelhante ao que ficou estabelecido nos trabalhos de LOUZADA [5], MATTOS & col.[6] e GALVÃO [4]. Em ordem decrescente de importância teríamos:

1. — Educação sanitária das "curiosas" e das gestantes, a fim de se evitar a contaminação do côto umbilical por ocasião do parto. A experiência do Serviço Especial de Saúde Pública (SESP) e a do Serviço Especial de Saúde de Araraquara indicam que diminui grandemente a incidência do tétano neo-natorum quando as "curiosas" aprendem normas elementares de higiene no tratamento do côto umbilical do recém-nascido. Esta medida, de caráter transitório, seria utilizada sòmente enquanto não se tenham parteiras diplomadas e enfermeiras de Saúde Pública, com treinamento em obstetrícia, em número suficiente.

2. — Vacinação das gestantes com três doses de anatoxina tetânica, a se iniciar em tôrno do 6º mês. MATTOS & col.[6], vacinando gestantes em qualquer época exceto no 8º e 9º mês, verificaram a produção de um nível de antitoxina que as protegia seguramente do tétano acidental e obstétrico. Além disto, seus filhos nasciam com uma proteção passiva eficiente contra a doença, pois o título de antitoxina se mantinha em nível satisfatório até depois de 15 dias, a contar da data do parto.

3. — Injeção de sôro antitetânico por ocasião da ligadura do côto umbilical, no recém-nascido, nos casos em que houver indícios de contaminação dêste durante o parto, providência suplementar lembrada por LOUZADA [5].

SUMMARY

Studies on the mortality by several causes in the Municipality of São Paulo. II. Tetanus.

As in other Brazilian cities, tetanus is an important problem in São Paulo, especially among the newborn.

The proportional mortality of the disease is rising, and of late the mortality presents a tendency to the horizontality, in this city. This is in contrast with what is noticed about most of the communicable diseases, which present a clear decline of mortality and proportional mortality.

A large proportion of deaths by tetanus is found in the first year of life: 63.93% of the total number of deaths by tetanus, from 1948 to 1957, and almost all have occurred in the newborn. These data strengthen the opinion of several authors that the umbilical tetanus is a serious public health problem in Brazil.

During the decade 1948-1957, the male mortality has been higher than the female one, in every age. This is due, probably, to greater exposure to the etiological agent.

The various races have presented mortality in a similar level, excepting the mulattoes, that had higher coefficients than the other groups, probably due to their bad social and economic conditions of life, which implies a worse assistance to childbirth.

The author found very small monthly variation of the deaths by tetanus in São Paulo, from 1948 to 1957, which means that exposure of man to the tetanic spores existing in the soil is the same throughout the year.

He suggest sanitary educations of the pregnant women and of the "curiosas" (unskilled midwives of our hinterland), while these is not a sufficient number of trained midwives and public health nurses, and the vaccination of the pregnant women with tetanic anatoxin as main measures to fight the neo-natorum tetanus.

REFERÊNCIAS

1 — ANUÁRIO DE BIOESTATÍSTICA, Rio de Janeiro, 1951, 1952 e 1954.

2 — ANUÁRIO DEMOGRÁFICO, São Paulo. Secção de estatística demógrafo-sanitária, ano 36, 1, 1929.

3 — COMISSÃO DE EXECUÇÃO DO ANTEPROJETO DO CÓDIGO SANITÁRIO DO ESTADO DE SÃO PAULO — Contribuição ao estudo do projeto do Código sanitário do Estado de São Paulo. Arq. Hig. & Saúde públ. **19/22**:135-138, 1954/57.

4 — GALVÃO, A. L. A. — Profilaxia do tétano neonatorum pela vacinação materna. Aspectos epidemiológicos. Jornada Brasileira de Puericultura e Pediatria, 8ª, São Paulo, 1954. (*In* Maternidade e infância, São Paulo **14**(1):142-150, jan./março 1955).

SCHMID, A. W. — Estudos sôbre a mortalidade por várias causas no Município de São Paulo. II. Tétano. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:89-98, 1959.

5 — LOUZADA, A. — A profilaxia do tétano no recém-nascido. Hospital, Rio de Janeiro 39:103-105, 1951.

6 — MATTOS, A. G. de; LACAZ, C. da S.; MASTROIANI, E. *et al.* — Estudos sôbre a proteção do recém-nascido contra o tétano umbilical pela imunização ativa da gestante com anatoxina tetânica. Rio de Janeiro, 1955.

7 — RAPP. ÉPIDÉM. & DÉMOGR. 8:32-33, 1955.

8 — ROSENAU, M. J. — Tetanus. (*In* Preventive medicine and public health. 8th edition by K. F. Maxcy. New York, Appleton-Century, 1956. p. 534-541).

9 — SCHMID, A. W. — Alguns dados epidemiológicos sôbre a mortalidade por doenças transmissíveis respiratórias agudas no Município de São Paulo (com uma crítica sucinta a respeito da morbidade e letalidade). 1958. Tese Fac. Hig. e Saúde Públ. da Univ. de São Paulo.

10 — VERONESI, R. — Tétano: grave problema de saúde pública no Brasil. Rev. paulista Med. 52:456-460, 1958.

Recebido para publicação em 4 de março de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):99-118, julho-agôsto 1959

OBSERVAÇÕES SÔBRE O CICLO EVOLUTIVO DO *TRYPANOSOMA CRUZI*

Luiz H. Pereira da Silva [1]

RESUMO

O autor procura esclarecer alguns pontos controvertidos do ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*, referentes ao significado do polimorfismo e ao determinismo evolutivo do parasita nas fases intra e extracelular do ciclo no vertebrado.

Realizando observações "in vitro" em sangue citratado de camundongos experimentalmente infectados com três cêpas diferentes de *T. cruzi* (Y, L e C), bem como no aparelho digestivo de triatomíneos, observou diferenças de comportamento entre os tripanosomas sanguícolas largos e os delgados em relação ao seu determinismo.

Obteve o ciclo completo do parasita a partir apenas de formas sanguícolas largas isoladas por micromanipulação e verificou a manutenção das características genéticas da morfologia da cêpa estudada, com o aparecimento de formas delgadas, intermediárias e largas no sangue periférico do camundongo inoculado apenas com largas.

Estuda o polimorfismo das formas sanguícolas do parasita, relacionando-o com o polimorfismo das leishmânias intracelulares observadas em cultivo de tecido. Em cultivo de tecido estuda, ainda, o processo de desenvolvimento dos tripanosomas a partir das leishmânias, confirmando a existência de um duplo processo de gênese dos tripanosomas no vertebrado.

INTRODUÇÃO

Os trabalhos de Chagas [3], Hartmann [16], Vianna [34] e Brumpt [1] estabeleceram em linhas gerais o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. Certos aspectos dêsse ciclo permaneceram, entretanto, controvertidos até hoje, e o crescente número de observações contrariando pontos de vista clássicos tornou necessária desde há algum tempo uma revisão do problema.

Os pontos mais discutidos do ciclo do parasita referem-se à gênese e ao determinismo das formas em tripanosoma no vertebrado, ao significado do dimorfismo, ou melhor, do polimorfismo das formas sanguícolas, à origem das formas metacíclicas e à existência ou não de ciclo esquizogônico e de processo sexuado na fase evolutiva nos triatomíneos.

De acôrdo com Delanöe & Delanöe [8], as formas de tripanosoma originam-se no vertebrado a partir das leishmânias por um processo de alongamento, com crescimento do flagelo no sentido longitudinal e migração do cinetoplasto para a extremidade posterior do parasita, havendo uma fase intermediária de critídia. Mayer & Rocha Lima [20] descreveram, entretanto, outro mecanismo de gênese dos tripanosomas, a partir das leishmânias, por um processo de "desenrolamento": inicialmente o cinetoplasto se arredonda, migrando para a periferia, o flagelo se desenvolve contornando o corpo arredondado do elemento leishmaniforme, verificando-se depois vacuolização da região entre o cinetoplasto e o núcleo com posterior ruptura dessa região, formando-se uma incisura em V ou U e "desenrolando-se" então o tri-

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Inst. Med. Trop. — Dep. de Parasitologia (Diretor: Prof. A. D. F. Amaral).

(1) Assistente.

panosoma. Os mesmos autores assinalaram um dimorfismo das leishmânias, fato que tem merecido menos atenção dos pesquisadores em geral; as leishmânias fusiformes dariam origem a tripanosomas por alongamento, passando pela fase de critídia, enquanto as arredondadas sofreriam o processo do "desenrolamento", dando origem aos tripanosomas diretamente.

Se o processo descrito por DELANÖE & DELANÖE, aceito pela maior parte dos parasitologistas, encontra apoio nas observações de MAYER & ROCHA LIMA [20], DIAS [9], GALLIARD [15] e REGO [29] em animais infectados, ROMAÑA & MEYER [31], MEYER & OLIVEIRA [22] em cultivo de tecido, por outro lado a evolução por "desenrolamento" descrita por MAYER & ROCHA LIMA foi também observada por ELKELES [12] e WOOD [35, 36], em animais infectados, ROMAÑA [30] em cultivo de tecido e MUNIZ & FREITAS [24] em meio de caldo-líquido peritoneal de cobaia. Êstes últimos puderam seguir em detalhe as diversas etapas dessa transformação, inclusive em observações "in vivo".

WOOD [35, 36], além do processo de "desenrolamento", que chama de "progressão indireta", admite um outro processo de "progressão direta", em que a leishmânia por alongamento do corpo e crescimento do flagelo origina o tripanosoma, permanecendo o cinetoplasto na extremidade posterior desde o início da transformação.

A gênese dos tripanosomas no invertebrado tem dado origem a mais controvérsias. BRUMPT [1] descreveu a formação dos metacíclicos a partir das critídias, por um processo semelhante ao referido para o vertebrado. CHAGAS [4], até sua última publicação a respeito, em 1927, insistia na existência de um ciclo esquizogônico do parasita no triatomíneo resultante de um processo sexuado, do qual surgiriam tripanosomas diferentes dos metacíclicos de BRUMPT, idéia defendida também por ELKELES.

Em uma série de trabalhos, ELKELES [10, 11, 12, 13] negou a formação de tripanosomas metacíclicos a partir das critídias, descrevendo em culturas e em triatomíneos a gênese dos tripanosomas a partir de elementos arredondados, "leishmânias de 2ª ordem" e "microleishmânias", por um processo de desenrolamento semelhante ao descrito por MAYER & ROCHA LIMA no vertebrado. Essas formas de desenrolamento foram consideradas pela maioria dos autores como resultado de artifícios de técnica, mas recentemente NOBLE [26] confirmou nesse ponto as idéias de ELKELES.

WHITAKER (*apud* NOBLE [26]) aceita a metamorfose de critídias em tripanosomas metacíclicos proposta por BRUMPT, mas descreve um outro método de formação dos metacíclicos que consiste numa divisão assimétrica de uma critídia em dois elementos, um dando o tripanosoma e outro formando a critídia.

Quanto ao dimorfismo das formas sanguícolas, várias hipóteses têm surgido para interpretá-lo. Admitia CHAGAS [3, 4] uma base sexual, os tripanosomas delgados representando as formas masculinas, enquanto as formas femininas seriam os tripanosomas largos. Descreveu diferenças estruturais entre os gametas e um processo de fecundação ao qual se seguiria um ciclo de reprodução esquizogônica do parasita no intestino do triatomíneo. CHAGAS [4] considera o ciclo critídia-metacíclico de BRUMPT como uma reprodução assexuada da forma masculina.

O aparecimento mais precoce das formas finas no sangue periférico e o encontro de formas intermediárias com o progredir da infecção levaram BRUMPT [1] a considerar as formas finas como formas jovens dependentes de evolução no sangue periférico para se tornarem largas, maduras. Êste ponto de vista tem sido aceito pela maior parte dos autores.

Ponto de vista oposto ao de BRUMPT é defendido por MAYER & OLIVEIRA [22], baseado em observações em cultivo de tecido. Êsses autores interpretam as formas delgadas como resultantes de permanência mais demorada dos tripanosomas no interior de células mais resistentes, e as formas largas como resultantes da ruptura mais precoce das células, libertando tripanosomas que ainda não sofreram alongamento completo.

PIZZI [27] concorda em que as formas finas sejam jovens e, relacionando o aparecimento das mesmas no início da infecção com o baixo grau de imunidade apresentado pelos animais de experiência nessa fase, conclui ser provável a existência de sensibilidade diferente de ambas as formas frente a mecanismos imunitários humorais.

Wood [35, 36] julga que as formas finas sejam resultantes da "progressão direta" em elementos celulares, como as fibras musculares, em que os parasitas estejam sujeitos a pressão longitudinal.

Nada se sabe sôbre os fatôres bioquímicos determinantes das metamorfoses intracelulares ou mesmo sôbre os fatôres nutritivos utilizados pelas formas intracelulares. Meyer & Oliveira [22] verificaram apenas que a transformação de leishmânia em tripanosoma, que dura cêrca de 24 horas, só se processa quando o elemento celular em que se desenvolve se abarrota completamente, processando-se concomitantemente em todos os elementos parasitários.

*

Acreditamos que o resumo de algumas das controvérsias existentes referidas acima possa dar idéia da complexidade do problema. Chamamos a atenção para o fato de, após as descrições clássicas entre 1909 e 1912, nenhum conhecimento mais profundo do ciclo do *T. cruzi* ter sido alcançado, limitando-se os autores que se interessaram pela questão a detalhar certos aspectos da evolução do parasita, confirmando um ou outro ponto de vista de Chagas, Brumpt ou Mayer & Rocha Lima.

Passados, portanto, 50 anos das descrições originais de Carlos Chagas, o problema situa-se quase como no ponto de partida. Isto se deve, a nosso ver, à metodologia empregada, que tem consistido essencialmente nas mesmas técnicas, puramente morfológicas. Com efeito, os numerosos pesquisadores que se têm ocupado do ciclo do *T. cruzi* limitam-se a observações de preparações a fresco ou coradas que representam instantâneos do processo evolutivo, sendo depois necessária uma elaboração subjetiva para dar continuidade ao processo. No que diz respeito ao ciclo no vertebrado, os estudos têm sido realizados em sua maior parte em animais experimentalmente infectados, especialmente camundongos, nos quais já foi demonstrada a influência direta ou indireta do sexo (Hauschka [17]), idade (Culbertson & Kessler [7]), constituição genética (Pizzi & col.[28]), quantidade de parasitas inoculados (Mazzotti [21]), fatôres hormonais (Jarpa & col.[18], Neghme & col.[25]), etc., sôbre o ciclo do parasita.

A complexidade dêsses fatôres, muito dêles incontroláveis, no hospedeiro vertebrado de um lado, e a variabilidade das cêpas de *Trypanosoma cruzi* de outro, talvez expliquem a diversidade de resultados obtidos.

A técnica de manutenção do parasita em cultivo de tecido, introduzida por Kofoid & col.[19]) e desenvolvida por Meyer & col. (trabalhos citados) veio trazer grande contribuição nesse sentido. A cultura de tecido elimina a maior parte dos fatôres citados a respeito das infecções em animais e além disso permite a observação, "in vivo" e contínua, da evolução do parasita nas fases intra e extra-celular e a fixação e coloração do preparado no momento desejado. Acrescente-se ainda a possibilidade de juntar-se ao meio nutritivo metabólitos ou antimetabólitos que possam favorecer ou bloquear certas fases da evolução.

O cultivo de tecido embrionário em gôta pendente utilizado pelos autores não é, entretanto, ainda bem adequado a uma exploração do metabolismo do parasita, desde que na constituição do meio nutritivo entram extratos embrionários e plasma de animal adulto, de composição variável e complexa.

O que foi dito para o ciclo do parasita no vertebrado aplica-se, "mutatis mutandis", para o ciclo no triatomíneo. Nesse ponto é mais antiga a prática da cultura em meios artificiais correspondentes ao meio intestinal dos triatomíneos, como o N.N.N., Bonacci, Nöller, etc., mas êsses meios, de constituição também não definida sob o ponto de vista bioquímico, não têm permitido grandes progressos. Recentemente foram dados os primeiros passos nesse sentido por Citri & Grassowicz [5], que descreveram um meio líquido semi-sintético de cultura do parasita. O aperfeiçoamento de meios dêsse tipo permitirá o esclarecimento de vários pontos, qual seja, por exemplo, o já assinalado nas interessantes observações de Muniz & Freitas [23], que conseguiram localizar nas hemácias, caldo de carne e peptona, um fator, diferente da hemoglobina ou hematina, necessário às formas sanguícolas para que estas consigam evoluir para critídias. Outro "fator" a ser esclarecido é o fator "L" que estimula a produção de metacíclicos na cultura, assinalado no caldo de fígado por Noble [26].

O esclarecimento do determinismo genético das diversas fases do ciclo do parasita está, portanto, a nosso ver, na dependência de duas conquistas preliminares: 1) a de um meio de cultura sintético, correspondente aos meios difásicos atuais, no qual possam ser controlados os fatôres determinantes das diversas transformações que ocorrem na luz do intestino dos triatomíneos; 2) no aperfeiçoamento dos métodos de cultivo de tecido infectado pelo *T. cruzi*, de modo a permitir a manutenção do mesmo com meios nutritivos também sintéticos e a exploração do metabolismo do parasita.

Êsses objetivos preliminares não têm apenas um interêsse direto para o esclarecimento do ciclo evolutivo do flagelado, mas um interêsse biológico muito mais geral, qual seja o de permitir o estudo dos fenômenos de metamorfose e reprodução de protozoários. E, além do interêsse puramente biológico, tem enorme alcance prático. O conhecimento do metabolismo do *T. cruzi* permitirá orientação segura na pesquisa de antimetabólitos eficazes, aliás já registrados por Castellani & Fernandes [2], Yoneda & col.[37] e Silva & col.[33], podendo levar a melhores resultados na quimioterapia da doença de Chagas do que a pesquisa empírica de medicamentos ativos contra o *T. cruzi*, que até hoje não conduziu a resultados úteis.

*

No presente trabalho reunimos algumas informações que obtivemos das observações que vimos realizando há alguns anos, sôbre o ciclo evolutivo do *T. cruzi*.

Abordamos, dentre os vários aspectos controvertidos do ciclo do parasita, um que nos despertou particular interêsse: o problema do polimorfismo do *T. cruzi* no vertebrado. Procuramos estudar diferenças de comportamento biológico entre as formas de tripanosoma, relacionando o polimorfismo dos elementos sanguícolas com a morfologia das formas intracelulares e com o processo de gênese dos tripanosomas em cultivo de tecido.

Acreditamos que nossas observações possam ser úteis aos que se interessam pela questão, por focalizar certos aspectos da evolução do parasita e chamar a tenção para as técnicas que julgamos necessário desenvolver para aprofundar o conhecimento do problema.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo das formas sanguícolas do Trypanosoma cruzi

O estudo das formas sanguícolas do *T. cruzi* foi por nós realizado com três cêpas de origem humana. A cêpa *Y* (Silva & Nussenzweig [32]), a cêpa *L* e cêpa *C*, tôdas isoladas por xenodiagnóstico de casos agudos da doença de Chagas, a primeira em 1950 e as outras em 1952. Desde então as mesmas vêm sendo mantidas em camundongos brancos de cêrca de 1 mês de idade, por meio de repiques sucessivos cada 8 a 14 dias.

Para observação da evolução "in vitro" das formas sanguícolas, puncionamos o coração dos camundongos infectados com seringa de 1 ml, contendo 0,2 a 0,3 ml de solução de citrato de sódio a 3,8%; a mistura sangue-citrato era colocada em tubo de ensaio e deixada em temperatura ambiente ou em geladeira a 6°C.

Para a observação da evolução em triatomíneos, utilizamos ninfas do 5° estádio ou adultos do *Rhodnius prolixus*, criados em laboratório. Fazíamos os insetos sugarem camundongos altamente infectados e, após tempo determinado, procedíamos à dissecção de seu aparelho digestivo pela técnica descrita por Dias [9].

As amostras de sangue colhidas foram em todos os casos submetidas a exame a fresco, em microscópio de fase, com cêrca de 800 aumentos, e após fixação pelo álcool metílico e coloração pelo May-Grünwald-Giemsa segundo a técnica de Cotrim & Ramalho [6].

Algumas experiências foram feitas no sentido de isolar formas delgadas e largas por micromanipulação. Para isso separávamos primeiramente as formas sanguícolas das hemácias e leucócitos, por centrifugação fracionada (Muniz & Freitas [24]), obtendo suspensões muito ricas dêsses elementos que eram colocados em pequenas gotículas em câmara de óleo (Fonbrune [14]) e depois isolados e injetados com microsseringa na cavidade peritoneal de camundongos recém-nascidos, após ligeiro pique com tesoura,

obstruindo-se imediatamente o orifício. feita a inoculação, com uma gôta de colódio.

Observações em cultivo de tecido

A maior parte dessas observações foi feita em cultivo pelo processo clássico de CARREL, em gôta pendente, de fragmentos de miocárdio ou cérebro de embrião de galinha infectados pelo *T. cruzi*, de acôrdo com as técnicas de ROMAÑA & MEYER [31] e MEYER & OLIVEIRA [22].

Utilizamos também duas cêpas de *T. cruzi*, a cêpa *L*, por nós adaptada ao cultivo de tecido diretamente a partir de formas sanguícolas de camundongos infectados, e uma cêpa gentilmente fornecida pela Srta. Hertha Meyer em fragmentos de embrião de *Gallus*, isolada a partir de cultura em N.N. e desde agôsto de 1957 mantida em cultivo de tecido.

As observações "in vivo" do cultivo foram realizadas em microscópio de fase com 800 aumentos. Posteriormente as culturas eram fixadas "in totum" em Bouin e coradas pelo Giemsa.

Fizemos algumas tentativas de manutenção do *T. cruzi* em "HeLa cells" e em células de miocárdio de macaco, ambas as cêpas dêstas células fornecidas pelo Dr. Renato Piza Carvalho. A manutenção dessas células em nosso laboratório foi feita de acôrdo com as técnicas habituais, utilizando-se para a "HeLa" meio com 20% de sôro humano, 10% de solução de hidrolisado de lactoalbumina a 5% e 70% de solução de Hanks; e para a célula de coração de macaco meio com a mesma constituição, substituindo porém o sôro humano por sôro de vitelo. A contaminação das culturas com o *T. cruzi* foi feita semeando-as ainda recém-preparadas com suspensão muito rica em formas sanguícolas lavadas e ressuspensas em solução de Hanks.

RESULTADOS

Morfologia das formas sanguícolas

As três formas de tripanosomas sanguícolas descritas ordinàriamente foram por nós observadas no sangue periférico de camundongos jovens infectados. Julgamos que nas preparações coradas o que mais caracteriza as formas delgadas é a posição relativamente afastada do cinetoplasto da extremidade posterior, o aspecto sinuoso do corpo do parasita, o flagelo livre curto e o núcleo difuso, representado por grânulos dispostos em faixa ocupando grande parte da região média do citoplasma e continuando-se muitas vêzes por uma série de grânulos, em geral dispostos em série linear até próximo à extremidade anterior do parasita (Fig. 1). Já nas formas largas o cinetoplasto é bastante próximo da extremidade posterior, o núcleo é ovóide e mais denso e o flagelo livre mais longo (Fig. 2). As formas intermediárias têm caracteres intermediários (Fig. 3).

Encontramos com relativa freqüência formas largas pequenas, medindo desde 13 μ de comprimento total e entre estas e as formas largas maiores que medem cêrca de 20 a 22 μ, observamos tôda uma gama de variação. Nessas formas largas pequenas (Fig. 4) o que nos chamou a atenção foram a dimensão relativamente grande do núcleo, de aspecto mais difuso, em relação ao citoplasma e a forma em *C* fechado que geralmente apresentam. Sua freqüência aumenta nos surtos de ascensão da parasitemia.

A distinção dessas formas pode ser feita fàcilmente a fresco em microscópio de fase pelas dimensões e tipos de movimento. Foi aliás o método que utilizamos para contagens diferenciais. As formas delgadas apresentam um movimento direcional rápido deslocando-se com grande velocidade no campo microscópico. A agitação intensa do flagelo dá a impressão de um movimento vibratório do parasita, sendo a extremidade posterior rígida, pela situação mais afastada do cinetoplasto. As formas largas apresentam movimentos de agitação e contorção que atingem todo o comprimento do parasita mas êstes delocam-se pouco no campo microscópico, sem movimento direcional, a não ser quando a espessura do preparado é muito pequena, movendo-se então entre as hemácias em ondulações lentas.

As três cêpas de *Trypanosoma cruzi* com que trabalhamos, mantidas em camundongos, apresentam aspectos diferentes no que diz respeito à morfologia das formas sanguícolas. Numa delas, a cêpa *Y*, as formas delgadas são muito freqüentes no início da in-

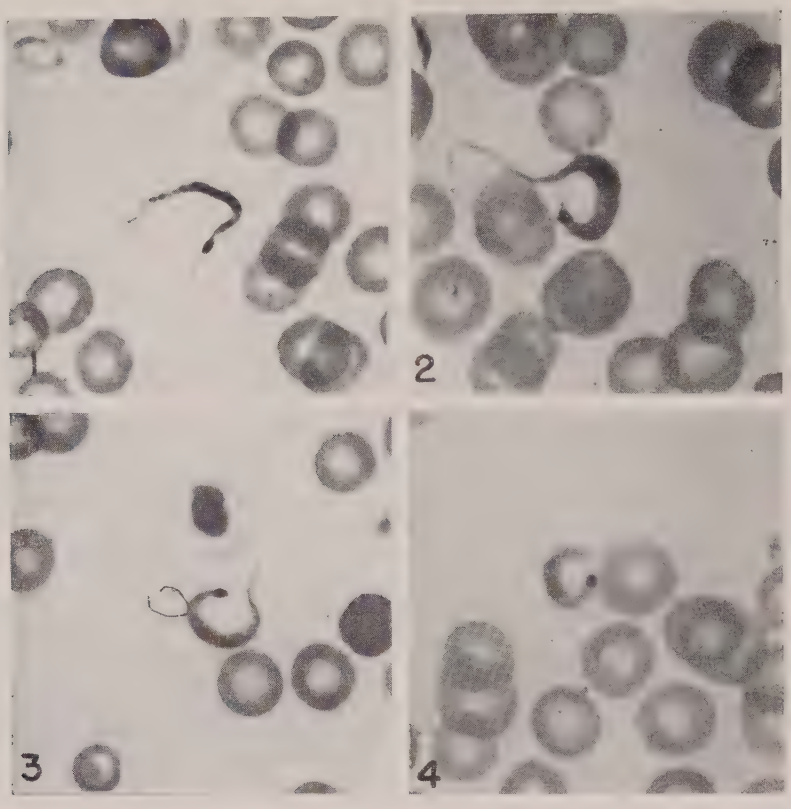


Fig. 1 — *Tripanosoma sanguícola delgado. Sangue de camundongo infectado por* T. cruzi — *cêpa* Y (x 1500).

Fig. 2 — *Tripanosoma sanguícola largo. Sangue de camundongo infectado por* T. cruzi — *cêpa* L (x 2000).

Fig. 3 — *Tripanosoma sanguícola intermediário. Sangue de camundongo infetado pelo* T. cruzi — *cêpa* Y (x 1500).

Fig. 4 — *Tripanosoma sanguícola largo pequeno. Sangue de camundongo infetado pelo* T. cruzi — *cêpa* L (x 2000).

fecção, predominando sôbre as formas intermediárias e largas, permanecendo em níveis elevados até depois do 10º dia a partir da inoculação, caindo a seguir gradativamente a níveis baixos mas sendo sempre encontradas, enquanto as formas largas, de início raras, vão aumentando em número no fim da infecção (Quadros I e II). Interessante é verificar que as formas intermediárias se apresentam também em níveis elevados enquanto as formas finas são abundantes caindo o seu número conjuntamente com o das formas delgadas.

Já nas cêpas *L* e *C*, as formas delgadas só surgem no início da infecção, em baixo número, ao lado de formas intermediárias mais abundantes, que permanecem mais tempo presentes no sangue. As formas largas predominam desde o início e depois de algum tempo são pràticamente as únicas encontradas no sangue circulante (Quadros III e IV).

Infecção em camundongo a partir de formas isoladas por micromanipulação

Como foi visto acima, nas cêpas *L* e *C*, a partir de certa fase da infecção, a predominância de formas largas no sangue é quase absoluta. Torna-se fácil, portanto, o isolamento de formas largas porque o número de formas intermediárias, ou sôbre as quais se tem dúvida, é pequeno. Fizemos várias tentativas de inoculação de formas largas iso-

QUADRO I

Evolução da infecção de camundongos inoculados com *T. cruzi* (cêpa *Y*), quanto à proporção das diferentes formas sanguícolas — Repique 63YB

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de camundongos examinados*	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
			finos	*intermediários*	*largos*
5	3	101	89	8	3
6	3	300	46,5	47	6,5
7	3	347	69	30	1
8	3	316	70	27	3
9	3	289	47	46	7
10	3	316	22	75	3
11	3	319	15	81	4
12	2	200	14	78	8

QUADRO II

Evolução da infecção de camundongos inoculados com *T. cruzi* (cêpa *Y*), quanto à proporção das diferentes formas sanguícolas — Repique 132YB

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de camundongos examinados*	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
			finos	*intermediários*	*largos*
14	3	300	1	5	94
16	3	300	1	4	95
18	3	200	1	4	95
20	2	200	1	2,5	96,5

QUADRO III

Evolução da infecção de camundongos inoculados com *T. cruzi* (cêpa *L*), quanto à proporção das diferentes formas sanguícolas — Repique 70L

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de camundongos examinados*	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
			finos	*intermediários*	*largos*
4	3	9	10	30	60
5	3	10	—	40	60
7	3	66	5	25	70
8	3	138	3	30	67
9	3	134	1	28	71
11	3	228	0,5	10	89,5
12	3	227	0,5	9	90,5
14	1	102	—	10	90
15	1	100	—	4	96

QUADRO IV

Evolução da infecção de camundongos inoculados com *T. cruzi* (cêpa *C*), quanto à proporção das diferentes formas sanguícolas — Repique 45C

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de camundongos examinados*	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
			finos	*intermediários*	*largos*
6	3	99	3	14	83
7	3	309	—	11	89
8	3	321	1	20	79
9	3	314	0,5	6,5	93
10	3	307	0,5	4,5	95
11	3	300	—	3	97
12	2	245	—	4	96
13	2	200	—	0,5	99,5
14	2	175	—	—	100
15	1	100	—	2	98
16	1	100	—	—	100

ladas com o micromanipulador de FONBRUNE e inoculadas na cavidade peritoneal de camundongos recém-nascidos, mas só tivemos sucesso numa ocasião em que isolamos e inoculamos 180 tripanosomas seguramente largos. A infecção sanguínea no camundongo inoculado dêsse modo manifestou-se após período pré-patente de 12 dias e desenvolveu-se de acôrdo com o que se pode ver no Quadro V. Foram encontradas formas intermediárias e mesmo formas delgadas nos 17º e 21º dias da infecção. No 31º dia o camundongo foi sacrificado, o sangue colhido por punção cardíaca e inoculado em mais 3 camundongos de cêrca de 1 mês. A infecção desenvolveu-se com facilidade e a contagem diferencial das formas sanguícolas acha-se expressa no Quadro VI. Se compararmos os Quadros IV e VI, o primeiro representando a distribuição normal na cêpa *C* e o segundo representando a distribuição nas infecções obtidas a partir apenas de formas largas, veremos que são sensìvelmente semelhantes, mostrando que foram mantidas as características genéticas da cêpa e que as formas delgadas podem se originar indiretamente das formas largas após ciclo tecidual.

QUADRO V

Evolução da infecção de camundongo inoculado com 180 formas largas de *T. cruzi* (cêpa *C*), isoladas por micromanipulação (1ª passagem)

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
		finos	*intermediários*	*largos*
12	4	—	—	100
13	10	—	30	70
14	50	—	6	94
15	100	—	8	92
17	87	1,5	3,5	95
18	68	—	2	98
19	63	—	5	95
20	100	—	3	97
21	100	2	3	95

QUADRO VI

Evolução da infecção de camundongos inoculados com *T. cruzi* (cêpa *C*), quanto à proporção das diferentes formas sanguícolas — Camundongos infectados a partir de formas largas isoladas por micromanipulação (2ª passagem)

Nº de dias a partir da inoculação	*Nº de camundongos examinados*	*Nº de tripanosomas contados*	*Percentagem de tripanosomas*		
			finos	*intermediários*	*largos*
6	3	108	—	12	88
7	3	196	0,5	8,5	93
8	3	265	2	20	78
9	3	250	—	2	98
10	3	257	—	5	95
11	2	200	—	1,5	98,5
12	2	200	—	1,5	98.5
13	2	200	—	2	98
14	2	200	—	2,5	97,5
15	2	200	—	2	98
16	1	100	—	1,5	98,5

O mesmo sucesso não tivemos com as formas delgadas. O isolamento de formas delgadas apresenta em nosso material maior dificuldade porque a predominância absoluta das mesmas só se faz no início da infecção da cêpa *Y*, quando a parasitemia é relativamente escassa, sendo então difícil reunir por isolamento individual no micromanipulador número suficiente de elementos para conseguir a infecção. Por outro lado, a existência de formas intermediárias dificulta a seleção, exigindo grande cuidado, o que prolonga a operação e pode afetar a vitalidade dos tripanosomas. Conseguimos assim inocular no máximo 63 formas delgadas na cavidade peritoneal de camundongos, sem que êstes tivessem contraído infecção.

Obtenção do ciclo completo a partir de formas largas

Para verificar a possibilidade de se conseguir o ciclo completo no vertebrado e nos triatomíneos a partir das formas largas sanguícolas isoladas, realizamos a seguinte experiência:

Tomamos 2 grupos de 3 ninfas de *Rhodnius prolixus* de 5º estádio. Fizemos o primeiro grupo alimentar-se no camundongo que havia adquirido infecção a partir da inoculação de formas largas da cêpa *C*, isoladas por micromanipulação. O segundo grupo de triatomíneos alimentou-se em um camundongo com cêpa *C* normal, que apresentava parasitemia de nível equivalente. Após 17 dias de manutenção dos insetos em estufa a 28ºC inoculamos em camundongo o conteúdo intestinal dos mesmos diluído em salina contendo penicilina aquosa na concentração de 1000 U.O./ml.

Dois camundongos inoculados com conteúdo intestinal do primeiro grupo de triatomíneos adquiriram a infecção mas não puderam ser observados muitos dias, pois morreram precocemente, provàvelmente por infecção bacteriana. Entretanto conseguimos verificar, após período pré-patente de 6 dias, no sangue dos animais inoculados, a presença de formas delgadas, intermediárias e largas, demonstrando-se a possibilidade de obtenção do ciclo completo do parasita a partir das formas sanguícolas largas.

Os camundongos inoculados com o conteúdo intestinal do segundo grupo de triatomíneos contraíram a infecção que pôde ser acompanhada até o 21º dia a partir da inoculação. Foi curioso então observar que as formas delgadas se apresentaram em proporção relativamente elevada no início da infecção, atingindo mesmo 55% do total no 9º dia, contrastando nìtidamente com o normalmente observado na cêpa. Depois do

12º dia a distribuição das formas sanguícolas tornou-se igual à habitualmente observada, assim permanecendo até o fim da infecção por morte dos camundongos.

Determinismo evolutivo das formas sanguícolas

A. — *Evolução das formas largas "in vitro" em sangue citratado.* — Foram feitas três experiências com a cêpa *L* e uma com a cêpa *Y*, observando-se periòdicamente a fresco e em preparações coradas, de 0 até 94 horas. Nas três experiências com a cêpa *L* as formas largas no sangue predominavam de forma absoluta, enquanto na experiência com a cêpa *Y* representavam 64% do total. Numa das experiências, parte do material foi mantido a 6ºC em geladeira. De resto o material foi mantido em temperatura ambiente do laboratório.

Observamos com constância a evolução das formas largas para elementos critidiformes e leishmaniformes. Essa evolução pode ser acompanhada a fresco e caracteriza-se, como já foi assinalado por Chagas, Brumpt, Dias e Elkeles pelo alargamento da porção anterior, migração do cinetoplasto para posição justa-nuclear ou anterior e encurtamento do flagelo livre. O flagelo aparentemente se espessa nesse processo de encurtamento. A extremidade posterior do parasita se arredonda enquanto a anterior permanece afilada. A movimentação dos flagelados vai diminuindo e, quando a transformação para elemento critidiforme se completa, o movimento é lento, fazendo-se à custa da membrana ondulante e do curto flagelo livre, desaparecendo pràticamente as contrações do corpo do parasita. Existe grande tendência à aglomeração das formas, quer entre si, quer a hemácias ou aglomerados de plaquetas.

Estas transformações se iniciam precocemente; observações com 6 horas mostram já as formas largas com movimentos mais lentos e tendência à aglomeração. Nas preparações coradas vemos que com 16 horas a maioria dos tripanosomas já evoluiu para elementos critidiformes, embora o cinetoplasto permaneça arredondado como o dos tripanosomas. Nas preparações com 48 horas na maioria dos elementos nota-se a transformação do cinetoplasto que toma a forma de bastonete semelhante ao das critídias (Fig. 5).

As pequenas formas largas parecem ter a mesma capacidade evolutiva que as formas grandes. Pudemos observar nelas as mesmas fases de evolução resultando elementos critidiformes e leishmaniformes também menores.

Observamos algumas vêzes nas preparações coradas, desde 16 horas, elementos arredondados que parecem ter evoluído diretamente de tripanosoma para leishmânia por enrolamento do flagelo em tôrno do parasita. Em material mantido em geladeira a 6ºC observamos com muito mais freqüência essas formas, inclusive "in vivo".

Também foi observado um terceiro processo de evolução das formas largas, semelhante ao verificado por Muniz & Freitas [24] sem migração do cinetoplasto, por alargamento do corpo, deslocamento do núcleo para a região anterior, desaparecimento da membrana ondulante, tornando-se o flagelo um apêndice prêso à massa do citoplasma. Tal tipo de evolução foi observado apenas quando o sangue infectado era mantido a 6ºC.

B. — *Evolução das formas delgadas "in vitro" em sangue citratado.* — Foram realizadas 4 experiências com a cêpa *Y*, fazendo-se do mesmo modo observações a fresco e em preparações coradas, de 0 a 96 horas depois da colheita.

Não observamos a evolução das formas delgadas no sentido da descrita para as formas largas. Nas observações a fresco verificamos que ao menos a maioria delas permanece com boa motilidade, sem alterações morfológicas, conservando boa vitalidade nos 2 ou 3 primeiros dias e depois perdendo-a gradativamente. A partir do 4º dia notamos algumas vêzes aglomeração das mesmas. Antes dêsse tempo não encontramos formas delgadas unidas, ao contrário do que ocorre com as largas que precocemente se aglutinam. Até o 4º dia foram observadas formas delgadas com morfologia pràticamente inalterada (Fig. 6) e sem sinal de transformação para forma larga no que diz respeito à posição do cinetoplasto, largura do citoplasma e estrutura do núcleo. Nesse tempo a evolução das formas largas para elementos critidiformes e leishmaniformes já se com-

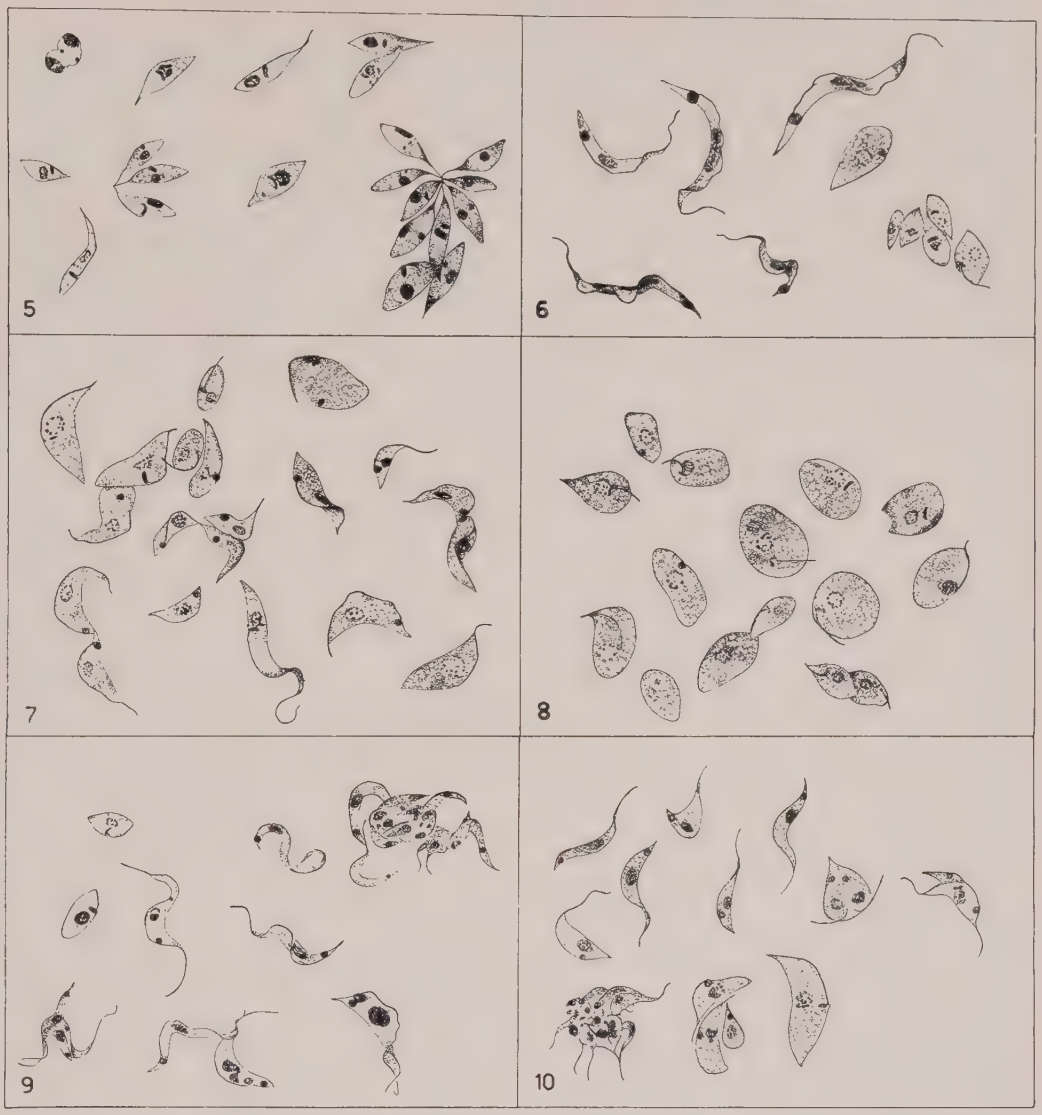


Fig. 5 — *Formas evolutivas do* T. cruzi — *cêpa* L — *em sangue citratado "in vitro" após 48 horas de permanência em temperatura ambiente. (Desenho em câmara clara* x 1000).

Fig. 6 — *Formas de tripanosomas delgados do* T. cruzi — *cêpa* Y — *após 4 dias de permanência em temperatura ambiente no sangue citratado "in vitro". (Desenho em câmara clara* x 1000).

Fig. 7 — *Formas evolutivas do* T. cruzi — *cêpa* L — *com 24 horas de permanência no estômago do triatomíneo. Elementos critidiformes com cinetoplasto redondo ou em barra, tripanosomas ainda não evoluídos e elementos leishmaniformes flagelados. (Desenho em câmara clara* x 1000).

Fig. 8 — *Formas evolutivas do* T. cruzi — *cêpa* L — *com 48 horas de permanência no estômago do triatomíneo. Ausência de tripanosomas; critídias e elementos leishmaniformes com e sem flagelo livre abundantes. (Desenho em câmara clara* x 1000).

Fig. 9 — *Formas evolutivas do* T. cruzi — *cêpa* Y — *com 48 horas de permanência no estômago do triatomíneo. Predominam ainda as formas delgadas com morfologia conservada, notando tendência à aglutinação. (Desenho em câmara clara* x 1000).

Fig. 10 — *Idêntica à anterior, com 72 horas. Permanência, ainda, de maioria de elementos com morfologia de tripanosomas, aglutinados muitos dêles, de dimensões reduzidas em relação às formas sanguícolas iniciais. Critídias já constituídas. (Desenho em câmara clara* x 1000).

pletou. Em material mantido em geladeira, quando então a hemólise era evitada, observou-se a permanência de formas finas com boa vitalidade até 7 dias, sem alterações morfológicas.

Nas observações a fresco e nas preparações coradas, pudemos observar que no mesmo material em que as formas delgadas permaneciam inalteradas as formas largas sofriam as mesmas transformações descritas no item anterior.

C. — *A evolução das formas largas no estômago do triatomíneo* foi a mesma observada "in vitro". As observações a fresco com 6 horas mostraram já uma diminuição da motilidade dos tripanosomas e após 16 horas muitos dêles apresentavam alterações para elementos critidiformes. Com 24 horas os tripanosomas eram ainda encontrados em pequeno número, mas eram muito raros com 48 horas. A migração do cinetoplasto e os outros fenômenos descritos puderam ser verificados muito bem em preparações coradas. Também a forma do cinetoplasto em bastonete se tornou freqüente nos elementos após 48 horas de permanência no estômago. A transformação de elementos critidiformes para elementos leishmaniformes com ou sem flagelo livre foi observada principalmente dentro de 48 a 72 horas. Entretanto, já com 48 horas, observamos no duodeno de alguns insetos abundantes formas de critídias em divisão, de morfologia semelhante às das formas encontradas no estômago e oriundas diretamente dos tripanosomas sanguícolas (Figs. 7 e 8).

A transformação direta de tripanosomas em elementos leishmaniformes por enrolamento do flagelo em tôrno do parasita foi também verificada no estômago dos triatomíneos a partir de 16 horas de permanência.

Em outras observações, verificamos que após 5 e mesmo 7 dias da alimentação infectante, encontram-se no estômago dos triatomíneos elementos critidiformes e leishmaniformes semelhantes aos descritos no material com 72 horas de permanência, sem sinais de divisão.

D. — *Evolução das formas delgadas nos triatomíneos.* — Foram realizadas três experiências e feitas observações com 16 a 96 horas. Duas experiências foram efetuadas com a cêpa *Y* e uma com a *L.*

Se a evolução das formas largas "in vitro" foi pràticamente a mesma observada nos triatomíneos, o mesmo não podemos dizer em relação às formas delgadas, pois embora tenha havido certo paralelismo, êste foi menos pronunciado. Realmente tivemos dificuldade em interpretar muitas formas encontradas.

Pelo exame a fresco observamos formas delgadas bem conservadas até 24 horas de permanência, quando já não observamos formas largas do tipo sanguícola, as quais estavam tôdas evoluindo para elementos critidiformes. As preparações coradas com 24 e 48 horas mostraram formas delgadas bem conservadas, ao lado de maior abundância de tripanosomas mais curtos e mais grossos que podem ter sido derivados das formas delgadas (Fig. 9). Êsses pequenos tripanosomas constituíram a maioria das formas livres ou aglomeradas, nas observações com 48, 72 e 96 horas, com exceção naturalmente das que apresentavam evolução característica das formas sanguícolas largas. Não conseguimos verificar se estas formas são capazes de continuar sua evolução. Temos a impressão de que a maior parte delas se aglomera e degenera depois de 72 a 96 horas.

Nas observações com 48 e 72 horas, além da aglomeração de vários elementos, verificamos o emparelhamento dêsses pequenos tripanosomas com aparente fusão de seu citoplasma (Figs. 9 e 10).

Embora ficássemos com várias dúvidas quanto à evolução das formas delgadas três fatos foram mais claros:

1. O número de formas que evoluíram para elementos critidiformes no material contendo formas delgadas e largas foi, nas experiências, proporcional à quantidade de formas largas existentes inicialmente.

2. O número de formas que mantiveram a morfologia de tripanosoma até 96 horas de observação foi também proporcional à quantidade de formas delgadas existentes inicialmente.

3. As formas delgadas apresentaram-se com morfologia igual à observada no sangue até 48 horas depois de permanecerem no estômago dos triatomíneos.

Morfologia e evolução dos elementos parasitários em cultivo de tecido

A. — *Morfologia das formas extracelulares.* — Transferindo fragmentos de tecido de embrião de *Gallus* parasitado pelo *T. cruzi* para novo meio nutritivo, observa-se depois de algumas horas o surgimento de tripanosomas oriundos de células parasitadas recém-rompidas. Êste processo pode ser seguido algumas vêzes, sob o microscópio, a partir da fase intracelular em que os tripanosomas apresentam movimentos enérgicos no interior da célula, rompendo-a depois e ganhando o meio extracelular.

Nessas observações pudemos verificar que as formas extracelulares do *T. cruzi* se apresentam desde o início com o seu polimorfismo característico quanto às formas, delgadas, intermediárias e largas, e quanto às dimensões, encontrando-se tripanosomas pequenos, médios e grandes.

Nas duas cêpas com que trabalhamos em cultivo de tecido, a proporção das três formas variou consideràvelmente de cultura para cultura.

Além das formas em tripanosoma é relativamente freqüente o encontro de elementos critidiformes, principalmente na proximidade de células rompidas recentemente. Observam-se também elementos arredondados, dotados de flagelo livre com forte movimento de rotação, e elementos leishmaniformes imóveis, arredondados ou fusiformes.

A técnica de cultivo de tecido embrionário de *Gallus*, em gôta pendente, não se presta muito para observação prolongada dos tripanosomas porque êstes são muito sensíveis às alterações que se operam depois de certo tempo no meio nutritivo, as quais determinam sua rápida transformação em elementos leishmaniformes no próprio meio extracelular.

Observamos a fresco a penetração de tripanosomas das três formas no interior de células do cultivo. As formas finas freqüentemente entram na célula, movem-se no seu interior com grande vitalidade e depois tornam a sair. Observamos formas delgadas e intermediárias sofrerem o processo inicial de transformação até a fase de elemento critidiforme, mas não conseguimos acompanhar além dêsse ponto o processo evolutivo. Quanto às formas largas, embora tivéssemos observado sua penetração no interior de células, não conseguimos acompanhar a sua evolução intracelular.

Observamos também que em certas ocasiões é muito freqüente a penetração de tripanosomas nas células do cultivo. Outras vêzes, embora haja grande riqueza de flagelados extracelulares, essa penetração é difícil de ser observada. Não conseguimos, entretanto, relacionar a freqüência dêsse fenômeno com as condições nutritivas do cultivo.

Nas preparações coradas os elementos intercelulares arredondados com ou sem flagelos acima referidos, mostram ser elementos leishmaniformes em vários graus de transformação para tripanosoma pelo processo de desenrolamento. Notamos as mesmas fases, que serão descritas abaixo, de desenvolvimento dos tripanosomas. Sua presença no meio intercelular se deve provàvelmente à ruptura precoce de algumas células parasitadas.

B. — *Morfologia das formas intracelulares.* — Fora os aspectos já bem conhecidos da morfologia das leishmânias, o que nos chamou a atenção foi a presença de dois aspectos distintos das mesmas: elementos arredondados e elementos fusiformes.

Não houve constância na proporção de formas arredondadas e fusiformes nas duas cêpas com que trabalhamos, mas verificamos que em cada célula parasitada se encontrava um ou outro tipo de elemento, mas não os dois (Fig. 12). Em ambas as cêpas, de modo geral, as fusiformes foram mais freqüentes, variando muito de dimensões como se pode ver na figura 13. A possibilidade de visualização da morfologia dos elementos intracelulares a fresco em microscopia de fase afasta a hipótese de se tratar de artefato de técnica. Não acreditamos também que a forma fusiforme se deva à compressão entre os elementos parasitários porque encontramos células com poucos parasitas que apresentam esta morfologia.

A observação de elementos critidiformes a fresco, ou em preparações coradas (Fig. 14), é também freqüente em células abarrotadas de parasitas que iniciam o seu processo de transformação para tripanosomas. As diversas fases evolutivas de elementos leishmaniformes até tripanosomas passando

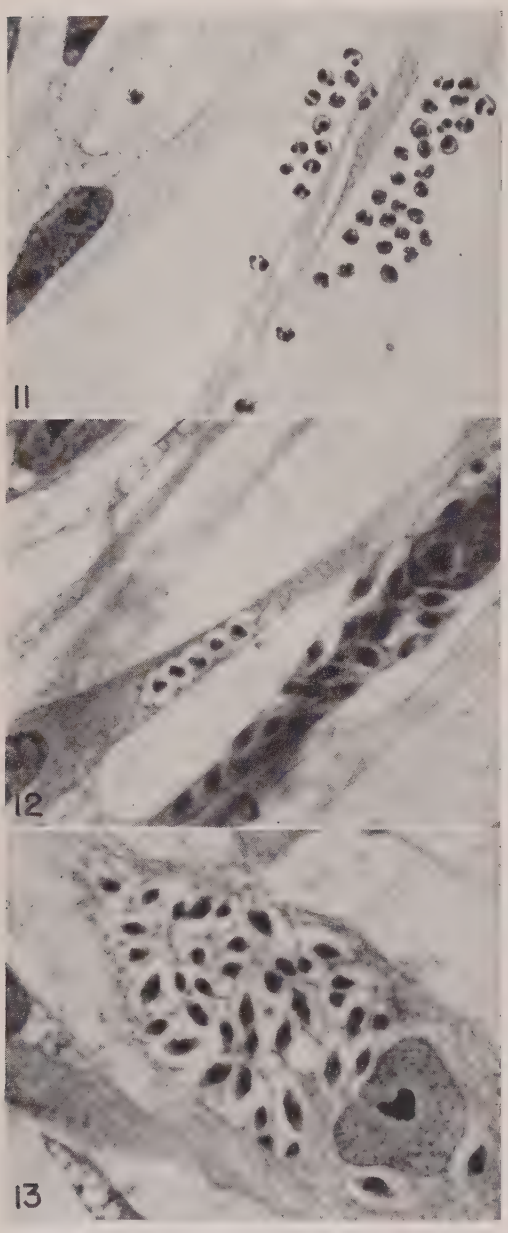


Fig. 11 — *Microfotografia de cultura de tecido embrionário de* Gallus *infectado com* T. cruzi *mostrando leishmânias já no meio intercelular, algumas apresentando sinais de evolução para tripanosoma por "desenrolamento"* (x 1200).

Fig. 12 — *Duas células vizinhas no cultivo. Uma apresentando leishmânias fusiformes. Outra apresentando leishmânias arredondadas* (x 1200).

Fig. 13 — *Célula de cultivo de tecido parasitada por leishmânia do* T. cruzi *do tipo fusiforme, apresentando grandes variações de dimensões* (x 1200).

pela fase de elementos critidiformes pode ser seguida a fresco em microscopia de fase e em preparações coradas (Figs. 14 e 15). O cinetoplasto inicia a sua migração para a extremidade posterior do parasita ainda com o seu aspecto de bastonete, típico das leishmânias e critídias, arredondando-se gradativamente quando atinge a extremidade posterior. Como se pode ver nessas figuras, existe uma fase intermediária de tripanosoma largo nesta seqüência evolutiva de leishmânia-critídia-tripanosoma, parecendo que a permanência mais prolongada no interior da célula determina a continuação do processo até tripanosoma delgado (Fig. 15). O tripanosoma mais largo por não ter sofrido alongamento completo pode naturalmente ganhar o meio extracelular pela ruptura precoce da célula, mas êle difere da forma sanguícola larga típica pela situação do cinetoplasto que nesta é subterminal, enquanto que naquele é afastado da extremidade posterior. Esta diferente situação do cinetoplasto, mesmo quando não possível de ser observada a fresco, e freqüentemente o é, determina uma motilidade diferente do flagelado, facilitando o seu reconhecimento a fresco. O cinetoplasto subterminal garante a extensão do flagelo em todo o comprimento do parasita, podendo-se observar bem o movimento da membrana ondulante e as contorções do tripanosoma em todo o seu comprimento como se observa na forma larga sanguícola. Já quando o cinetoplasto é afastado da extremidade posterior, esta tem certa rigidez e o movimento de contorção do parasita, bem como o de sua membrana ondulante, só é observado da região média para a extremidade anterior. Os tripanosomas delgados também apresentam esta rigidez da extremidade posterior, determinada pela posição do cinetoplasto.

Além dêsse tipo de evolução de leishmânia-critídia-tripanosoma, que observamos em relação às leishmânias fusiformes, encontramos formas de evolução direta de leishmânia para tripanosoma por desenrolamento. Foram observadas em relação a leishmânias de contornos arredondados, parecendo, pelas preparações coradas, dar-se a evolução com a seguinte seqüência: o cinetoplasto do elemento leishmaniforme se arredonda, situa-se junto da membrana do parasita, o flagelo cresce contornando o elemento arredondado.

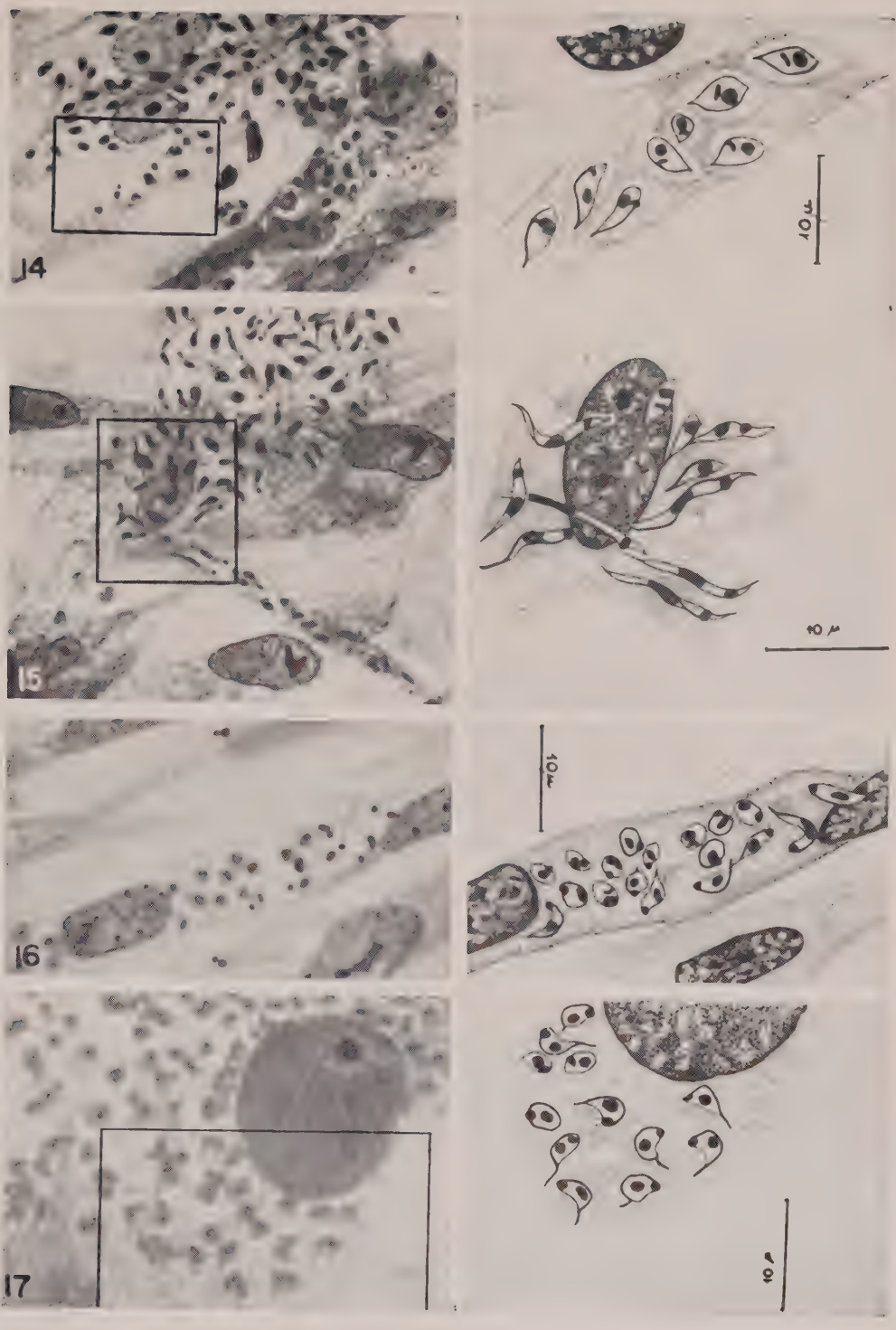


Fig. 14 — *Microfotografia de célula parasitada mostrando na região assinalada formas evolutivas de leishmânia para tripanosoma por alongamento, notando-se fase intermediária de critídia. Ao lado, desenho em câmara clara da região assinalada.*

Fig. 15 — *Como na anterior, apenas em fase mais avançada, notando-se raras leishmânias, algumas critídias e maioria de tripanosomas, alguns dêles com morfologia característica das formas delgadas. Ao lado, desenho em câmara clara da região assinalada.*

Fig. 16 — *Várias fases de "desenrolamento" de leishmânias para tripanosomas, no interior de fibroblasto de cultivo de tecido embrionário de* Gallus. *Ao lado, desenho em câmara clara.*

Fig. 17 — *Idem, em cultivo de células de coração de macaco em meio líquido. Ao lado, desenho em câmara clara.*

O núcleo alonga-se, o citoplasma na região próxima ao cinetoplasto se vacuoliza e depois se rompe, desenrolando-se o parasita (Figs. 11, 16 e 17).

Em face anterior ao desenrolamento, notam-se elementos arredondados com flagelo contornando tôda a extensão do parasita e com uma porção livre longa. Por êsse processo o cinetoplasto se situa bem próximo à extremidade posterior desde que se diferencie o tripanosoma, o volume nuclear é bastante grande em relação ao do citoplasma e o tripanosoma formado é largo, o flagelo livre bastante longo desde o início, caracteres em tudo semelhantes aos das pequenas formas sanguícolas descritas mais atrás. Nunca encontramos no interior de células formas largas grandes do tipo da que encontramos em circulação no sangue de camundongos infectados. As observações a fresco que conseguimos realizar dêsse tipo de evolução leishmânia-tripanosoma foram menos completas que para o tipo de evolução anterior. Observamos apenas, após ruptura de células parasitadas, a libertação de tripanosomas largos e de certo número de elementos arredondados, com flagelo livre longo, dotados de vivo movimento de rotação e com grandes contorções, dando a impressão de um processo de desenrolamento.

COMENTÁRIOS

Nossas observações vêm confirmar a existência de duplo processo de gênese dos tripanosomas no vertebrado descrito por Mayer & Rocha Lima [20] e aceito por Wood [5] e Romaña [30]. O processo de "desenrolamento", de acôrdo com a nomenclatura de Mayer & Rocha Lima, "progressão indireta" (Wood) ou "progressão orbicular" (Romaña), só foi observado a partir de leishmânias de aspecto arredondado, enquanto o processo de evolução por alongamento com passagem pela forma de critídia aceito pela maior parte dos autores, foi observado em relação às leishmânias fusiformes. Não pudemos excluir que ocorram fenômenos opostos, ou que as leishmânias arredondadas se transformem em fusiformes, ou vice-versa. A evolução por alongamento como foi observada em cultivo de tecido pode dar origem às formas delgadas e intermediárias idênticas às sanguícolas, mas pode dar, em fase intermediária do processo, como já observaram Meyer & Oliveira [22] tripanosomas largos que entretanto consideramos diferentes dos tripanosomas sanguícolas largos típicos, pela posição do cinetoplasto e outros aspectos morfológicos. Por outro lado, a evolução por desenrolamento em nossas preparações de cultivo de tecido dava origem a tripanosomas largos, semelhantes às formas sanguícolas largas pequenas. Estas, nas infecções experimentais em camundongo pelas cêpas *L* e *C*, são freqüentes no sangue periférico, principalmente em surtos de aumento de parasitemia, o que falaria em favor de sua recente saída de células.

Nossos dados de cultura de tecido sugerem, portanto, que o desenrolamento origine pequenos tripanosomas largos enquanto o alongamento determina a formação de tripanosomas delgados ou intermediários. Não conseguimos, entretanto, esclarecer qualquer razão que pudesse determinar um ou outro tipo de evolução. Não é provável que essa dualidade seja a expressão de fenômenos de sexualidade mesmo porque em nossas experiências com micromanipulação foi possível obter em camundongos formas delgadas e intermediárias a partir da inoculação apenas de formas largas, o que demonstra existir durante o ciclo do vertebrado algum momento em que haja interconversão das formas quer na fase de leishmânia, quer na fase de tripanosoma.

Não aceitamos também que o dimorfismo possa ser explicado apenas pela juventude das formas delgadas. Nossas observações em cultivo de tecido mostram que se podem originar no interior das células formas delgadas, intermediárias e largas. Os três tipos, logo após abandonarem as células, já apresentam o movimento característico das respectivas formas sanguícolas. Por outro lado, nossas observações comparativas da morfologia das formas sanguícolas, em infecções experimentais em camundongo nas cêpas *Y*, *L* e *C*, mostram que, enquanto na primeira as formas delgadas são realmente abundantes no início da infecção, diminuindo com o evoluir da mesma, já nas outras duas cêpas as formas largas predominam de muito desde o início da infecção, surgindo em grande número logo no primeiro ciclo tecidual, o

que demonstra existirem formas jovens circulantes largas desde o início.

Outros fatôres aventados para explicar o dimorfismo, tais como fatôres imunitários (Pizzi [27]) e o tipo de células em que se desenvolvem os flagelados (Meyer & Oliveira, Wood), realmente não podem ser afastados. Como se sabe o tropismo tecidual das diferentes cêpas de *T. cruzi* pode variar, sendo a cêpa *Y*, por exemplo, reticulotrópica (Rêgo [29]), enquanto outras são músculo-trópicas, neuro-trópicas, etc. Êsse diferente tropismo, condicionando diferentes ambientes celulares para o ciclo tecidual, poderia explicar a variação de morfologia de uma cêpa para outra, mas ter-se-ia de invocar também a influência de fatôres imunitários, como sugeriu Pizzi, para explicar a variação na mesma cêpa no decurso da infecção.

Se os fatôres imunitários agiriam sôbre os tripanosomas extracelulares ou durante a própria fase intracelular não se pode saber, sendo importante, a nosso ver, estudos a respeito.

Fato curioso em nossas observações foi que, embora a inoculação de formas largas da cêpa *C* tivesse determinado infecções em que a morfologia dos elementos sanguícolas não diferia das infecções com a cêpa original, já quando fizemos uma passagem em "barbeiro" da mesma cêpa, a proporção de formas delgadas no início da infecção foi muito maior que a normalmente observada quando se mantém a infecção por meio de repique sucessivo em camundongo.

O problema do dimorfismo das formas sanguícolas do *T. cruzi* está, pois, ainda por esclarecer, não se podendo rejeitar com segurança nenhuma das idéias até hoje aventadas para explicá-lo. Nossas observações sobre o determinismo das formas sanguícolas em sangue infectado "in vitro" e em triatomíneos vêm acrescentar, às diferenças morfológicas já descritas, outra de natureza biológica, qual seja um comportamento diverso no que diz respeito à capacidade de evoluir para elementos critidiformes ou leishmaniformes. As formas largas de duas cêpas mostraram grande facilidade de evoluir nesse sentido enquanto em relação às formas delgadas não chegamos a observar essa evolução. Tal comportamento diferente poderia correr por conta do não "amadurecimento" das formas delgadas. Entretanto, como já foi discutido acima, outros fatos falam contra a interpretação das formas delgadas simplesmente pela sua juventude e, além disso, verificamos a sua capacidade de invadir as células e transformar-se em elemento critidiforme, o que mostra ser a forma delgada

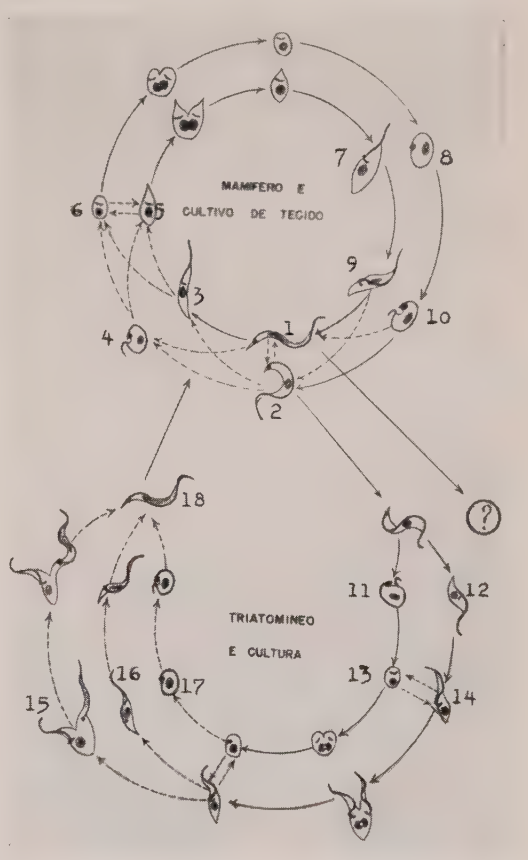


Fig. 18 — Esquema do ciclo evolutivo do T. cruzi. *Em linhas cheias as vias evolutivas, descritas em vários trabalhos, e observadas pelo autor. Em linha interrompida, vias descritas em outros trabalhos mas não obesrvadas pelo autor e de interpretação ainda não bem estabelecida. 1. Tripanosoma sanguícola delgado; 2. Tripanosoma sanguícola largo; 3. Elemento critidiforme intracelular; 4. Forma de "enrolamento" do tripanosoma; 5. Leishmânia fusiforme; 6. Leishmânia arredondada; 7-9. Formas evolutivas para tripanosoma por "alongamento"; 8-10. Formas evolutivas para tripanosoma por "desenrolamento"; 11. Forma evolutiva para leishmânia por "enrolamento"; 12. Forma evolutiva para critídia por migração do cinetoplasto; 13. Leishmânia; 14. Critídia; 15. Gênese do tripanosoma metacíclics por divisão assimétrica de critídia; 16. Idem, por migração do cinetoplasto de critídia; 17. Idem, por "desenrolamento".*

capaz de evoluir no meio intracelular. Por outro lado, formas largas que consideramos jovens, quais sejam os pequenos tripanosomas largos que surgem nos surtos de parasitemia, mostram-se igualmente capazes de evoluir nos triatomíneos ou "in vitro", seguindo o mesmo processo evolutivo das formas largas grandes.

Fato que se deve ter sempre em mente ao abordar êsse problema é o da existência do dimorfismo também em tripanosomas outros que não o *T. cruzi*, como os do grupo *brucei-evansi*, que se reproduzem na corrente circulatória sob a forma de tripanosoma. Êsse fato, que tem merecido também as mais diversas interpretações, de certo modo nos mostra que estamos em presença de um fenômeno mais geral e que não pode ser abordado ùnicamente em função das particularidades do ciclo evolutivo do *T. cruzi*.

SUMMARY

Studies in the life cycle of "Trypanosoma cruzi".

In ordem to clarify some aspects of the life cycle of *Trypasonoma cruzi*, especially the origin and determinism of the trypanosome form in the vertebrate host, some experiments were performed "in vitro" with infected blood of mice, as well as in the digestive tract of triatomid-bugs and in tissue culture.

A different behaviour of the broad and slender forms of trypanosomes was observed in citrated blood of mice experimentally infected when the blood was maintained "in vitro" at room temperature (about 20°C).

The broad forms, after a few hours, begin to change in one of the following ways:

1) The posterior part of the trypanosome becomes more broad, the kinetoplast migrates to a juxta-nuclear position and the free flagellum shortens. A diffuse vacuolization of the cytoplasm is often observed, or else a great vacuole just behind the kinetoplast. After 16 hours great numbers of crithidiform organisms were seem, and after 48 hours practically all broad trypanosomes underwent such transformations.

2) On the other hand, some broad trypanosomes were observed that change directly into round leishmaniform organisms within a few hours. This was much more frequent when the infected blood was kept in the icebox at 6°C. The slender forms, on the contrary, maintained their morphological characters as well as their typical movements during 4 or 5 days, and after that agglomerate and degenerate without undergoing further evolution.

In the digestive tract of triatomid-bugs the broad forms followed the same evolution observed "in vitro" in citrated blood. The slender forms were observed with unchanged morphology and movements at least until 48 hours after the ingestion of infected blood. Most of the trypanosomes agglomerate and degenerate after 72 hours, but a direct evolution to leishmaniform organisms could not be excluded.

In tissue culture the development of the trypanosome form was studied in the interior of the cells and the observations confirmed the existence of a double transformation process of leishmaniae into trypanosomes.

In the direct one, the leishmania stays oval-shaped while the flagellum grows around the body of the parasite. After that the parasite "unrolls" and elongates originating the trypanosome form. This type of development gives origin to broad and short trypanosomes, similar to the parasites frequently observed in the blood of infected mice during the periods of ascention of parasitemia.

In the other process the leishmania elongates while the kinetoplast migrates to the posterior part of the parasite. Thus there is a crithidia phase in the interior of the cell during this progression, until the parasite acquires the typical trypanosome form. This development was observed only with fusiform leishmaniae, while the direct one was seen in round-shaped elements.

The analysis of the morphology of the blood forms of *Trypanosoma cruzi* in experimentally infected mice with 3 differents strains of the parasite maintained through many years by successive inoculation shows that in one of them (*Y* strain) the slender forms were very frequent in the beginning of the infection and stayed at a high level for some time. The broad forms, very rare at the beginning, increase only in number after 10 or more days; after 2 or more weeks they predominate and finally constitute

almost the totality of the blood trypanosomes. In the other two strains (*C* and *L*) the slender forms were very rare, the broad ones predominating almost absolutely since the beginning of the infection. The presence of short and broad trypanosomes, of about 12 to 15 micra of length, was frequently noted in the periods of ascention of parasitemia. Those little trypanosomes could be, according to the author, young forms just out from the cells.

These observations confirm also the existence of a double process of development of leishmania into trypanosome.

Using the micromanipulator it was possible to isolate 180 broad forms of blood trypanosomes from infected mice and inoculate them in a new-born mouse. The infection developed and after a few days slender, intermediate and broad trypanosomes appeared in the blood of the mouse, which does not confirm the sexual origin of the polymorphism of blood trypanosomes.

The quantitative analysis of relative frequency of slender, intermediate and broad trypanosomes in the peripheral blood shows that the isolation and inoculation of broad forms only did not change the normal characters of the strain.

Nevertheless, when a passage through triatomid-bugs was performed, the frequency of the slender forms increased markedly.

AGRADECIMENTOS

Deixamos consignados aqui nossos agradecimentos à Srta. Hertha Meyer, do Instituto de Biofísica da Universidade do Brasil, e ao Dr. Renato Piza de Carvalho, do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da U.S.P.

REFERÊNCIAS

1 — BRUMPT, E. — Le Trypanosoma cruzi évolue chez *Conorhinus megistus, Cimex lectularius, Cimex boueti* et *Ornithodorus moubata*. Bull. Soc. path. éxot. **5**:360-367, 1912.

2 — CASTELLANI, O. & FERNANDES, J. F. — Efeito de análogos de purinas sôbre a biosíntese de nucleotídios por *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Resumo das Comunicações à X Reunião Anual da S.B.P.C., São Paulo, 6-12 de julho de 1958.

3 — CHAGAS, C. — Nova tripanosomiase humana. Estudo sobre a morfolojia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen. n. sp., ajente etiolojico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **1**:159-218, 1909.

4 — CHAGAS, C. — Quelques aspects evolutifs du *Trypanosoma cruzi* dans l'insect transmeteur. Compt. rend. Soc. biol. **97**:829-832, 1927.

5 — CITRI, N. & GROSSOWICZ, N. — A partially defined culture medium for *Trypanosoma cruzi* and some other Haemoflagellates. J. Gen. Microbiol. **13**:273-278, 1955.

6 — COTRIM, J. X. & RAMALHO, A. C. R. — Nova técnica de coloração de protozoários pelos derivados do Romanovsky. Folia clin. et biol. **23**:161-166, 1955.

7 — CULBERTSON, J. T. & KESSLER, W. R. — Age resistance of mice to *Trypanosoma cruzi*. J. Parasitol. **28**:155-158, 1942.

8 — DELANÖE, M. & DELANÖE, P. — A propos du *Schizotrypanum cruzi*. Bull. Soc. path. exot. **5**:599-602, 1912.

9 — DIAS, E. — Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **28**: 1-110, 1934.

10 — ELKELES, G. — Investigaciones sobre la evolución del *Trypanosoma cruzi*. Objeciones contra el concepto actual, y fundamentos para un nuevo concepto sobre la evolución del trypanosoma. Rev. Soc. argent. biol. **16**:763-776, 1940.

11 — ELKELES, G. — Investigaciones sobre la biologia del *Trypanosoma cruzi*. III^{a} comunicación. El proceso de retrogresión de la forma trypanosómica. Rev. Soc. argent. biol. **18**:315-320, 1942.

12 — ELKELES, G. — Experimental studies and critical considerations regarding the life cycle of *Trypanosoma cruzi*. Amer. J. Trop. Med. **25**:141-143, 1945.

13 — ELKELES, G. — On the life cycle of *Trypanosoma cruzi*. J. Parasitol. **37**:379-386, 1951.

14 — FONBRUNE, P. — Téchnique de micromanipulation. Paris, Masson, 1949.

15 — GALLIARD, H. — Recherches sur le cycle évolutif de *Trypanosoma cruzi* Chagas à propos de l'infestation péritoneale exclusive chez la souris. Ann. parasitol. hum. et comp. **27**:63-85, 1952.

16 — HARTMANN, M. — Notiz ueber eine weitere Art der Schizogonie bei *Schizotrypanum cruzi* (Chagas). Arch. Protistenk. **20**: 361-363, 1910.

17 — HAUSCHKA, T. S. — Sex of host as a factor in Chagas' disease. J. Parasitol. **33**: 399, 1947.

18 — JARPA, A.; AGOSIN, M.; CHRISTEN, R. & ATIAS, A. V. — Ensayos de quimioterapia de la enfermedad de Chagas experimental. VII. Cortisona y fosfato de pentaquina. Bol. enferm. parasit. chilenas **6**:25-27, 1951.

19 — KOFOID, C. A.; WOOD, F. C. & McNEIL, E. — The cycle of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture of embryonic heart muscle. Univ. California Publ., Zool. **41**:23-24, 1935.

20 — MAYER, M. & ROCHA LIMA, H. — Zur Entwicklung von *Schizotrypanum cruzi* in Säugetieren. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **16**(Beiheft 3):90-94, 1912.

21 — MAZZOTTI, L. — Effects of inoculating small and large numbers of *Trypanosoma cruzi* into mice. Amer. J. Hyg. **31**:86-91, 1940.

22 — MEYER, H. & OLIVEIRA, M. X. — Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture: a four year study. Parasitology **39**:91-94, 1948.

23 — MUNIZ, J. & FREITAS, G. — Estudo sôbre o determinismo da transformação das formas sanguícolas do *Schizotrypanum cruzi* em critídias. Rev. brasil. Med. **2**:995-998, 1945.

24 — MUNIZ, J. & FREITAS, G. — Realização "in vitro" do ciclo do *Schizotrypanum cruzi* no vertebrado, em meios de caldo líquido peritonial. Rev. brasil. biol. **6**:467-484, 1946.

25 — NEGHME, A.; BADINEZ, O.; JARPA, A.; THIERMANN, E.; AGOSIN, M. & CHRISTEN, R. — Acción de la cortisona sobre la trypanosomiasis chagásica experimental del ratón suprarrenoprivo y total. Bol. enferm. parasit. chilenas **7**:4-6, 1952.

26 — NOBLE, E. J. — The morphology and life cycles of trypanosomes. Quart. Rev. Biol. **30**:1-28, 1955.

27 — PIZZI, T. — Sobre el problema de las formas delgadas de *Trypanosoma cruzi*. Bol. enferm. parasit. chilenas **8**:26-30, 1953.

28 — PIZZI, T.; AGOSIN, M.; CHRISTEN, R.; HOECKER, G. & NEGHME, A. — Influencia de la constitución genética de la laucha en la infección experimental por *Trypanosoma cruzi*. Biologica nºs 8/11:43-53, 1949.

29 — REGO, S. F. M. — Sôbre o encontro de formas tissulares do *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, no sangue circulante do camundongo branco (*Mus musculus*). Folia clin. et biol. **26**:17-46, 1956.

30 — ROMAÑA, C. — Acerca del ciclo evolutivo del *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* Chagas 1909, en sus faces tisular y hematica. An. Inst. med. reg. **4**:155-171, 1955.

31 — ROMAÑA, C. & MEYER, H. — Estudo do ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* em cultura de tecido de embrião de galinha. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **37**:19-27, 1942.

32 — SILVA, L. H. P. & NUSSENZWEIG, V. — Sôbre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. Folia clin. et biol. **20**:191-208, 1953.

33 — SILVA, L. H. P.; PEREIRA, J. P. M. & FERNANDES, J. F. — Ação do aminonucleosídio da Estilomicina sôbre a infecção experimental de camundongos por *Trypanosoma cruzi*. Resumo das Comunicações à X Reunião Anual da S.B.P.C., São Paulo, 6-12 de julho de 1958.

34 — VIANNA, G. — Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da "Molestia de Carlos Chagas" (esquizotripanoze humana ou tiroidite parazitaria). Mem. Inst. Oswaldo Cruz **3**:276-294, 1911.

35 — WOOD, S. F. — Development of Arizona *Trypanosoma cruzi* in mouse muscle. Amer. J. Trop. Med. **31**:1-8, 1951.

36 — WOOD, S. F. — Hematologic differentiation of the intramuscular developmental forms of *Trypanosoma cruzi*. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. **2**:1015-1033, 1953.

37 — YONEDA, S.; SILVA, L. H. P. & FERNANDES, J. F. — Biossíntese de compostos purínicos pelo *Trypanosoma cruzi* em cultura de tecido. Resumo das Comunicações à X Reunião Anual da S.B.P.C., São Paulo, 6-12 de julho de 1958.

Recebido para publicação em 10 de abril de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):119-128, julho-agôsto 1959

OBSERVATIONS ON THE DIAGNOSIS OF CHRONIC TOXOPLASMA INFECTION IN MICE

Maria Paumgartten DEANE [1] and Ruth Sonntag NUSSENZWEIG [1]

SUMMARY

The Authors present the results of their work on dye-test versus examination of brain sections, for detection of chronic experimental toxoplasmosis in mice.

The mice were survivors from lots used in experiments on the transmission of *Toxoplasma gondii* through blood-sucking arthropods. Out of 69 such animals on which 240 dye-tests were performed, only 4 gave positive results, whereas the examination of brain sections of 58 of them led to the finding of pseudocysts in 35 and glial nodes with parasites in 5 more.

On the other hand, in a miscellaneous group of mice infected by other means and in which the chronic stage was apparently reached only after a massive or prolonged contact of the host with the parasite, the percentages of positives by the dye-test and by brain examination were approximately identical.

In discussing the failure of the dye-test in the first group of mice, the Authors advance the hypothesis of toxoplasma having, among its so-called "proliferative forms" some organisms that are not truly proliferative — thus causing no disease and no antibody response — but specially destined to produce pseudocysts. Those organisms might be the "dormant" ones mentioned by COOK & JACOBS, and they also could be the resistant ones — that survive for a long period in the intestinal tract of blood-sucking arthropods and, probably, in other environments which are fatal to the true proliferative forms.

INTRODUCTION

While working on the transmission of *Toxoplasma gondii* through blood-sucking arthropods [2, 12], we were confronted with the problem of detecting the so-called "unapparent" infection among experimental animals. Since it is mostly under the unapparent phase that naturally acquired toxoplasmosis occurs in man and animals, we feel that the natural mechanism — or mechanisms — of transmission must be such as to convey more often this type of infection rather than the acute fatal disease.

In the present paper we describe and discuss the results obtained in our attempts to diagnose experimentally induced toxoplasmosis in mice.

MATERIAL AND METHODS

Strain of Toxoplasma. — This we call the "N" strain, as it was supplied by NOBREGA, who, with his co-workers, isolated it during an outbreak of spontaneous toxoplasmosis among rabbits of the Instituto Biológico, São Paulo [10].

The strain has been maintained for several years in our laboratory, in white mice, through intraperitoneal passages made on every third day of infection. Its virulence

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Inst. Med. Trop. — Dep. Parasitologia (Prof. A. D. F. Amaral).

(1) Voluntary Assistants, with fellowships granted by the Conselho Nacional de Pesquisas.

for mice is high since almost 100 percent of those inoculated in routine passages die of acute toxoplasmosis quite regularly in 4-5 days. It must be mentioned, however, that on two occasions we noticed what appeared to be a lessening of virulence: the parasites became rarer and the mice longer lived, a few of these surviving to a chronic stage. The previous levels of parasitism and survival were re-established after a few more passages.

A detailed study of the pathology produced by the strain is yet to be made, but we are able to state that since the 2nd-3rd day following intraperitoneal inoculation the mice develop marked ascites, the exudate being rich in cells, fibrin and toxoplasmas. Both liver and spleen become enlarged but the former is always much richer in parasites. These are to be found also in the lungs, myocardium, brain and other organs and in thick blood smears. After several hundred passages through mice the "N" strain keeps its virulence for rabbits. As for white rats, we were never able to produce fatal infection among them, even with very heavy inocula, although pseudocysts have been found in brain sections of one rat killed several weeks after inoculation.

Animals. — Although a few white rats and rabbits were inoculated for special purposes, all our work on transmission has been done with white mice. Our experience confirms that of many other workers about the high susceptibility of mice to toxoplasma and the absence of spontaneous infection among them.

Mice were obtained as needed, usually in groups of twenty, from the colony maintained to supply all the laboratories of the Faculty. Great care was taken in handling, labelling, cleaning, sterilizing and disposing of animals, metal and glassware and we never had any evidence of stray infections among our mice.

Infection of the animals. — The methods employed in our experiments on transmission of toxoplasma through blood-sucking arthopods have been detailed elsewhere [2, 12]. It is enough to mention here that mice have been infected by: 1) intraperitoneal inoculation of triturated triatomids or ticks, previously fed on sick animals, various time-intervals having elapsed between feeding and inoculation; 2) mechanical transfer of parasites, by feeding triatomid bugs alternately on sick and clean mice; 3) ingestion of infected triatomid bugs, and, 4) the bite of ticks fed several days previously on sick animals.

Observations here described also include mice inoculated for the detection of unapparent infections among those used in the above mentioned experiments. In this case injection was always intraperitoneal, the inoculum being peritoneal exudate and/or triturated tissues (liver, spleen and brain). Penicillin was added to the inoculum when this was made up of triturated bugs or tissues.

Detection of acute infection. — Mice were daily watched and those found dead were examined whenever possible. Dying animals were killed and examined at once, so that examination could be made in good conditions, and also to prevent the surviving mice of feeding on the carcasses (a fact that occasionally occurred, despite the care to avoid it).

Marked ascites with a fibrinous milky exudate rich in cells and parasites was taken as proof that the animal had died (or was dying) of acute toxoplasmosis. This was usually the case when acute infection had been produced by intraperitoneal inoculation. Yet, sometimes mice died within a few days after inoculation, showing enlarged liver and spleen, and ascites, but no parasites could be detected or were so rare as to shed doubt on the diagnosis. In such cases, toxoplasma was considered as cause of the infection only if a sub-inoculation was positive. The diagnosis of acute toxoplasmosis was sometimes made prior to the animal's death, through the examination of peritoneal exudate obtained by paracentesis.

Among mice infected through other routes (i.e, not by intraperitoneal inoculation), some died of acute toxoplasmosis within various periods, but did not develop ascites. Spleen and liver were usually enlarged and richly parasitized.

Detection of chronic infection. — This has been quite a problem for us at the be-

ginning, and the way we solved it makes the main subject of this paper.

At first, relying on other workers' experience [5], we tried "blind passages", that is, serial sub-inoculations of tissues suspensions into groups of clean mice. Some infections were thus detected but it soon became evident that the demand in technical help, animals, cages and so on, was more than we could expect to get. It was then decided to adopt the following scheme, based chiefly on DESMONT & LE TAN VINH'S [3] suggestions:

1) Between the 5th and 10th days of inoculation a search for parasites was made in peritoneal exudate aspirated by syringe, or — exudate being absent — in peritoneal washings obtained by injection and subsequent aspiration of (about 1 ml.) sterile saline. If no parasites were found, some of the animals were killed for sub-inoculations. The other negatives plus the surviving positives were kept under observation.

2) Beginning between the 20th and 30th days, dye-tests were performed at intervals of 5-10 days, on all surviving animals, blood being taken from the orbital sinus according to HALPERN & PACAUD'S technique [6].

3) After at least 45 days of observation and several dye-tests, surviving mice were anesthetized and bled from the heart for another dye-test.

If the results were negative all along, the animal was considered as not infected.

Dye-tests — were performed in accordance with the original technique proposed by SABIN & FELDMAN [13], slightly modified in details as published in a former paper [11].

During the animals' life, blood was taken from the orbital sinus, mixed with saline, allowed to clot and then centrifuged. The amounts of blood and saline were calculated so as to give a final serum dilution of about 1:10, from which two more dilutions (1:50 and 1:100) were obtained. When the animal was sacrificed and a good amount of blood could be had from the heart, a first serum dilution of 1:5 was made. In almost all tests considered as negative the reading was compared with that of the accessory factor test tube. Only occasionally did a serum give a somewhat higher proportion of unstained organisms, suggesting that perhaps a lower dilution would give a 50:50 or higher reading.

RESULTS

In vivo examination of peritoneal exudate or washings gave definitely positive results only in mice showing clinically evident infection. All these died of acute toxoplasmosis shortly after, except one that survived to a chronic stage. Among apparently healthy animals such examination only permitted the occasional finding (in fresh preparations) of a few parasites — the infection being sometimes confirmed by animal passages.

Dye-tests were consistently negative in all the first lots of mice surviving inoculation with macerate of blood-sucking arthropods previously fed on sick animals.

So, up to a certain period in our experiments, the results could be classified as follows:

a) mice with clinical and parasitological evidence of acute toxoplasmosis, almost all dying in about 5-10 days;

b) mice with no clinical signs but showing a few parasites when examined between the 5th and 10th days and with the infection confirmed by passages in other mice, and,

c) mice with no clinical signs, parasitological examination negative or not confirmed through animal passages, and which, having survived more than 20 days, had several negative dye-tests.

The last group was considered as non infected.

The results being hitherto in accordance with the time period elapsed between the blood meal of the arthropods and their inoculation into mice, they seemed to indicate that: a) for only about 3 days enough toxoplasms survived (in the arthropods' digestive tract) to cause acute disease; b) from then up to about 10 days, infection was irregular, only a few parasites surviving in some of the bugs, causing mostly subacute disease, and, c) after the 10th day no parasite survived as no infection could be detected among the mice in which this was being tested.

These conclusions seemed perfectly satisfactory but, anyway, we later decided to save the brain of all mice dead or killed more than 20 days after inoculation. Sections of the organ were made and examined, and, to our surprise, we soon began to find typical pseudocysts in brain sections of mice which had had several negative dye-tests.

Dye-test versus brain examination. — Although a total of 448 dye-tests have been performed on a total of 133 mice surviving 20 days or more the experimental inoculations, Table I only shows the results obtained since we started to use both methods to detect the infection. As seen by the data on the Table I, an average of more than 3 tests were made per mouse. Actually, the number per mouse varied according, of course, to survival: on a few only one test was possible, but on the others two to six were made.

Out of 69 mice on which 240 tests were performed, only 4 gave positive results. Pseudocysts have been found in the brain of 3 of the positive mice. The fourth died of acute toxoplasmosis after a second inoculation had been made to test the presence of protective antibodies, and its brain was not examined.

Examination of brain-sections of 58 mice of the same group yielded 40 positive results. This means that, among the same group of mice of which only 5.8% had

TABLE I

Results of dye-tests and examination of brain sections of mice used in experiments on the transmission of *Toxoplasma gondii*

Lot Nº	Mice surviving 20 days or more									Acute toxoplasmosis in other mice of same lot
	Total	Dye-tested				Brain examined				
		Nº of tests	Nº of mice	Positive mice		Nº of mice	Positives			
				Nº	%		With pseudocysts	With "nodes & parasites"	%	
27-1	1	4	1	—		1	1	—		?
29-1	4	12	4	—		3	2	—		—
29-2	4	14	4	1		4	4	—		—
30	1	4	1	1		—	—	—		+
31	2	10	2	—		2	2	—		—
32	1	5	1	—		1	1	—		?
34	2	11	2	—		2	1	—		+
34-1	3	15	3	—		3	2	—		—
35-1	3	9	3	—		1	1	—		+
36	4	15	4	1		3	3	—		—
36-A	4	15	4	1		4	2	—		—
37	4	14	4	—		3	3	—		—
37-A	3	12	3	—		3	2	—		—
39	2	6	2	—		2	1	—		—
40	2	8	2	—		2	1	—		—
41	10	38	10	—		10	4	2		—
44	4	16	4	—		4	1	1		—
45	3	5	3	—		1	1	—		—
46	3	7	3	—		2	—	1		—
47	4	12	4	—		4	2	—		—
48	2	3	2	—		1	—	1		—
49	3	5	3	—		2	1	—		—
Totals	69	240	69	4*	5.8	58	35	5	68.9	...

* In only one of these the brain was not examined; in the other 3 the brain had pseudocystis.

been positive by the dye-test, 68.9% had parasites in the brain.

Histological examination may look as too laborious a method but, actually, it is not so if one has the adequate facilities. As the sections may be kept almost indefinitely, examination may be done whenever possible and one may always go back to the original paraffin blocks for new sections. We usually immersed the whole brain in 10% commercial formalin. This is not the best way of obtaining a good fixation, but we found it good enough for the purpose in view. After inclusion in paraffin, 3-5 slides were made, each with 3-5 sections, stained with haematoxylin-eosin and examined under low power (oc. 5x, obj. 10x). After some training we were able to detect even the smallest cysts with such magnification. Anything unusual was, of course, checked under high power.

Data in Table I include mice in which no pseudocysts were found, but only "nodes with parasites". By this is meant the presence of glial reaction that we found to be quite frequent in positive animals. The reaction was sometimes discrete, more often compact, forming what we came to call "typical nodes". In most of these no identifiable toxoplasmas could be spotted, but some do contain a few or, occasionally, numerous bodies which were definitely recognized as parasites.

The absence of such reaction around intact pseudocysts was the rule. They were usually to be found elsewhere, in the same section or in another section of the same brain. Nevertheless we found a few pseudocysts surrounded by cell reaction. Sometimes it looked as if the cyst had ruptured and been invaded by cells. Occasionally an opposite interpretation seemed more likely, i.e, that small pseudocysts were forming in spite of tissue reaction and destruction of parasites in their immediate vicinity.

We tried the examination of fresh preparations of brain triturated in saline, as suggested by some [3], but abandonned the method as unpractical and possibly dangerous.

Summarizing our results, we may say that the dye-test was an almost complete failure for the detection of chronic toxoplasmosis in this group of mice: on 35 mice with pseudocysts, a total of 128 dye-tests revealed only 3 infections.

DISCUSSION

In an effort to clarify the reasons for this apparent failure of the dye-test, we tried to produce chronic toxoplasmosis through different means, and thus have other groups of mice tested for comparison. This proved to be quite a difficult task. Although we kept other less virulent strains of toxoplasma, we wanted all the work done with the "N" strain so as to have comparable results all along. Besides, the "N" strain was fairly well "stabilized" in mice and for years has been used in dye-tests for the diagnosis of human toxoplasmosis * and in a survey among blood-donors [11].

Trials made with the injection of very small amounts of diluted infected exudate, even if through the intradermal or subcutaneous route, resulted but in a delay of death due to acute infection. Successes were few and obtained as follows:

1) Nine mice were fed on peritoneal exudate or liver tissue of acutely infected animals: 7 of them died of acute toxoplasmosis. The 2 survivals were repeatedly dye-tested with negative results, but both had their brains examined and pseudocysts were found in one.

2) Thirty-eight mice were intraperitoneally inoculated with a small quantity of diluted peritoneal exudate and started immediately on a diet containing sulfadiazine in quantities calculated to yield about 4 mg. of the drug per mouse per day. After 12 days sulfa was discontinued, only 2 mice having died, both with positive exudate. The others looked healthy but some days later they began to die rapidly and all those that could be examined showed toxoplasmas; one of them, found dying on the 17th day of inoculation, was bled from the heart and had a positive dye-test at 1:50. Administration of sulfa was resumed but only 6 mice survived to the 30th day, when the drug was again discontinued and a dye-test was per-

* With very satisfactory results, including fatal congenital human cases from which the parasite was later isolated.

formed giving 100% positive results. Four mice were still alive 5 months later, when they were again dye-tested and again positive. Their brains were not examined.

3) Another group of 25 mice was inoculated through the peritoneum with mixtures of peritoneal exudate (rich in toxoplasmas), plus blood, or broth, and penicillin, kept for various periods of time. Mice injected with the oldest mixtures presented no evidence of infection, but in the 5 lots inoculated with mixtures 4 to 10 days old, 7 mice died of acute toxoplasmosis and 9 survived. Dye-tests were performed on all 9, being positive in 7; 2 of these had the brain examined and both had pseudocysts.

Results obtained in this miscellaneous group of mice are presented on Table II, together with those seen in 4 other mice that, at different times and for unknown reasons, survived the routine inoculations made for the preservation of the strain. The percentage of dye-test positives here — 81.8 — is obviously quite different from that — 5.8 — seen among the mice used in our transmission experiments (Table I). Besides, while in the miscellaneous group only 1 out of 5 found with a positive brain had negative dye-tests, in the other group this ratio was of 37 to 40.

On Table III are given the maximum titers obtained in all positive dye-tests among mice of both the first group (listed on Table I) and the miscellaneous group (listed on Table II).

TABLE II

Results of dye-tests and examination of brain sections on a miscellaneous group of mice surviving inoculation with *Toxoplasma gondii*

Mice of group	*Type of inoculum, route of inoculation, etc.*	*Mice surviving 15 days or more*							*Mice dead of acute toxoplasmosis*
		Total	*Dye-tested*			*Brain examined*			
			Nº	*Positives*		*Nº*	*Positives*		
				Nº	*%*		*Nº*	*%*	
M-1	Tissues acutely infected mice; orally.	2	2	—	—	2	1	50.0	7
M-2	Peritoneal exudate of acutely infected mice; intra-peritoneally. *Treated with sulfa.*	7	7	7	100.0	—	—	—	31
M-3	Peritoneal exudate of acutely infected mice, kept several days; intra-peritoneally.	9	9	7	77.8	2	2	100.0	7
M-4	Peritoneal exudate of acutely infected mice; intra-peritoneally. Routine passages.	4	4	4	100.0	2	2	100.0	many
Totals		22	22	18	81.8	6	5	83.3	...

TABLE III

Maximum titers obtained in dye-tests performed on various groups of mice experimentally infected with *Toxoplasma gondii*

Nº	Mice of group	Type of inoculum, route of inoculation, etc.	Time intervals after inoculation in days					5 months
			15-19	20-29	30-39	40-49	50 +	
1	29-2	Experiments on	...	...	1:50	...	1:50	—
2	30	transmission through	...	neg.	1:10	1:10	—	—
3	36	arthropods	...	...	1:10	neg.	(neg.)	—
4	36-A		...	...	neg.	1:10	(neg.)	—
5	M-2	Peritoneal exudate of	1:50	—	—	—	—	—
6		acutely infected mice;	...	...	1:5000	...	1:1000	—
7		intra-peritoneally;	...	...	1: 100	...	1: 100	1:250
8		*treated with sulfa.*	...	...	1: 100	...	1: 100	1:250
9			...	...	1: 100	—	—	—
10			...	...	1:5000	...	1: 500	1:500
11			...	...	1: 100	...	1: 100	1:250
12	M-3	Peritoneal exudate of	...	1:10	(neg.)	—	—	—
13		acutely infected mice,	...	1:10	—	—	—	—
14		kept several days;	...	1:10	—	—	—	—
15		intra-peritoneally.	...	1:10	neg.	—	—	—
16			...	neg.	1:10	(neg.)	—	—
17			...	1:10	neg.	—	—	—
18			...	1:50	1:10	...	(neg.)	—
19	M-4	Peritoneal exudate of	1:10	...	neg.	(neg.)	—	—
20		acutely infected mice;	...	...	1:10	—	—	—
21		intra-peritoneally;	...	...	1:10	—	—	—
22		routine passages.	...	...	1:10	—	—	—

neg. = negative from 1:10 dilution
(neg.) = negative from 1:5 dilution
... = test not performed
— = animal not alive or control suspended

In view of the results here described we came to consider the dye-test as very specific, but not quite so sensitive as to justify the assumptions that negatively dye-tested mice should be considered uninfected. We realize the importance of the dye-test in minimizing "the possibility of confusion of *Toxoplasma* with a morphologically similar organism" — as said by JONES *et al.*[8]. We thought, indeed, about the possibility that we might be dealing with another parasite that could have originally infected some of the mice, or the bugs. This idea was, however, laid aside by the following reasons:

1) Among mice infected through blood-sucking arthropods, pseudocysts had the same appearance both in the negatively and in the positively dye-tested mice;

2) They had again the same appearance as those pseudocysts found in mice (and one rat) infected with material directly taken from mice with acute toxoplasmosis;

3) They were also identical with pseudocysts found in fatal human cases of the congenital disease;

4) Nothing like toxoplasma pseudocysts was found in 16 carefully examined mice

taken at various times and from different lots of the stock-colony;

5) The triatomid bugs, used in most of the transmission experiments, were taken from a colony long maintained and extensively used in studies on *Trypanosoma cruzi*, by several people in the Laboratory:— no parasite similar to toxoplasma was ever found either in the bugs or in animals infected through them.

From all the results presented in this paper the obvious inference is that the inoculum may be insufficient to stimulate the building up of "cytoplasma-modifying" antibodies to detectable levels and yet be still enough to result in pseudocyst production. A positive test may probably be expected if the organism of the host has had the opportunity of a sufficient contact with the antigen furnished by the proliferative phase of the parasite, through either a heavy inoculum of dead parasites, or a prolonged infection, or both.

Our positively dye-tested mice were mostly survivals from lots in which the same inoculum caused acute fatal disease to some or, even, to most of the animals. The group that furnished the highest titers was precisely the one in which the infection was so severe as to cause death to the great majority, despite prolonged sulfa treatment. For another group of positives the inoculum was probably poor in living parasites (although enough to cause fatal disease to many), but certainly rich in antigen furnished by dead toxoplasmas. On the other hand, no acute disease was detected in many lots of mice of which some showed pseudocysts — and all of which had consistently negative dye-tests.

It is obvious that for only a few days the material conveyed in the intestinal tract of triatomid bugs, contains parasites capable of causing acute or sub-acute disease. From then on the parasites are only enough to cause chronic toxoplasmosis.

And now, we ask ourselves if this "enough" means simply "number of parasites", i.e, if we are actually dealing here "with the late part of a survival curve which is becoming asymptotic", as explained by JACOBS [7] when referring to infectivity of stored infected tissues. As it has been noticed with other strains [4, 9], the "N" strain is so virulent that it seems theoretically probable that just one parasite taken from an acutely infected mouse may cause fatal infection to the recipient mouse. On the other hand, the proliferative phase of the "N" strain, just as others', has a limited ability for surviving in different media. Why should some individual parasites survive for a much longer period in some environments — such as the intestinal tract of triatomid bugs — where most of them are quickly destroyed? And why should the few forms that manage to survive longer, be not capable anymore of rapid multiplication in the host's cells (causing no acute or sub-acute disease), but still be able to resist the host's defenses and produce pseudocysts?

We think of a hypothesis that could perhaps answer these and many another questions: — that among the so-called "proliferative forms" of toxoplasma there might be individuals with distinct physiological properties and of which the destiny would be to produce pseudocysts, just as, for instance, of each schizont of plasmodia some merozoites develop to gametocytes while the others continue the schizogonic cycle. Such forms, if more resistant to conditions that adversely affect the true proliferative forms, could assure the transmission from host to host by several different means, even before they have a chance to form pseudocysts. On the other hand, if less invasive than the true "proliferative forms", they would, thereby, cause no disease and no antibody response.

We have not known of such a hypothesis being expressed by others, but it seems to us that there is a suggestion of it in the following period by COOK & JACOBS [1]: "The possibility may be considered, therefore, that under some circumstances, dormant forms of the parasites may persist in cultures cleared of proliferating toxoplasmas by pyrimethamine. This hypothesis suggests that it may be profitable to study *in vitro*, by the use of drugs and immune serum, the mechanism by which pseudocysts are formed."

After permitting ourselves this little theorizing, we only wish to emphasize that the dye-test, useful as it undoubtedly is, should not be relied upon too much when it comes to detect unapparent toxoplasma infections among laboratory animals.

DEANE, M. P. & NUSSENZWEIG, R. S. — Observations on the diagnosis of chronic toxoplasma infection in mice. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:119-128, 1959.

RESUMO

As Autoras relatam sua experiência no diagnóstico da toxoplasmose latente em camundongos.

Quando estudavam a possibilidade de transmissão do *Toxoplasma gondii* por artrópodes hematófagos verificaram que, dos camundongos utilizados nas experiências, uma parte morria de toxoplasmose aguda, sendo a infecção fàcilmente evidenciada pelo encontro de parasitas no exsudato peritoneal, no fígado e no baço. Em outros camundongos que não apresentavam o quadro típico da infecção aguda, os parasitas puderam ser demonstrados por sub-inoculações. Muitos animais, porém, sobreviveram mais de 20 dias, sem sinais de doença. Para comprovar a possível existência de infecções latentes nestes animais, as Autoras lançaram mão da prova do corante (reação de SABIN & FELDMAN). As provas eram iniciadas entre o 20º e 30º dia após a inoculação e repetidas a intervalos de 5-10 dias, sendo o sangue colhido do plexo retro-orbital. Depois de 45 dias ou mais e de várias reações de SABIN-FELDMAN negativas, os animais eram sacrificados e sangrados do coração para nova reação.

Baseadas nas afirmativas de vários pesquisadores as Autoras, a princípio, consideravam negativos e desprezavam todos os animais que tinham tido várias provas de SABIN-FELDMAN negativas.

Posteriormente, entretanto, resolveram examinar o cérebro (cortes histológicos) de todos os animais utilizados nas experiências e que houvessem sobrevivido mais de 20 dias à inoculação, tendo então — com surprêsa — verificado a presença de pseudocistos em muitos camundongos nos quais diversas provas de SABIN-FELDMAN tinham sido negativas. Assim é que, de 69 camundongos nos quais fôra feito um total de 240 reações, só 4 tinham sido positivos, enquanto que o exame do cérebro de 58 dêles revelou pseudocistos em 35 e nódulos inflamatórios com parasitas em 5 outros.

Por outro lado, num grupo miscelânico de camundongos infectados por outros modos, as percentagens de positividade foram quase idênticas tanto pela prova do corante como pelo exame do cérebro. Neste grupo de camundongos, aparentemente a fase crônica foi atingida só depois de um contacto duradouro (através de uma infecção prolongada), ou maciço (devido à grande quantidade de parasitas mortos presentes no inoculum) do parasita com o organismo do hospedeiro. Aqui teria havido, portanto, suficiente estímulo para a produção dos anticorpos "modificadores do citoplasma" evidenciados pela positividade da prova do corante.

Continuando a discutir os resultados de suas observações, as Autoras apresentam a hipótese de que, na chamada "fase proliferativa", tenha o toxoplasma, ao lado das formas realmente proliferativas, outras destinadas a evoluir para pseudocistos — da mesma maneira que, por exemplo, em cada esquizonte de plasmódio alguns merozoítas evoluem para gametócitos enquanto que os demais continuam o ciclo de multiplicação esquizogônica. As formas não proliferativas seriam provàvelmente pouco virulentas, incapazes de causar doença e resposta imunitária do hospedeiro, mas, por outro lado, mais resistentes, sobrevivendo por longo tempo em ambientes — tais como o tubo digestivo de certos artrópodes — nos quais as demais formas são ràpidamente destruídas.

Concluindo seu trabalho, dizem as Autoras que, baseadas em sua própria experiência, consideram a prova do corante muito útil e específica, porém não tão sensível como a julgam vários pesquisadores, segundo os quais devem ser tomados como não infectados os animais em que a prova houver sido negativa.

REFERENCES

1 — COOK, M. K. & JACOBS, L. — *In vitro* investigations on the action of Pyrimethamine against *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. **44**:280-288, 1958.

2 — DEANE, M. P. — Estudos sôbre a transmissão do *Toxoplasma gondii*. II. Nota sôbre a transmissão experimental pelo carrapato *Amblyoma cajennense*. Rev. brasil. de Malariol. e Doenças trop. **10**(4), 1958.

3 — DESMONT, G. & LE TAN VINH — L'isolement du toxoplasme par innoculation à l'animal. Rev. franç. d'études clin. et biol. **2**:555-565, 1957.

4 — EYLES, D. E. & COLEMAN, N. — Relationship of size of inoculum to time of death in mice infected with *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. **42**:272-276, 1956.

DEANE, M. P. & NUSSENZWEIG, R. S. — Observations on the diagnosis of chronic toxoplasma infection in mice. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:119-128, 1959.

5 — FRENKEL, J. K. FRIEDLANDER, S. — Toxoplasmosis. Pathology of neonatal disease, pathogenesis, diagnosis and treatment. U.S. Public Health Service Publication nº 141:77-78, 1951.

6 — HALPERN, B. N. & PACAUD. A. — Technique de prévèvement d'échantillons de sang chez les petits animaux de laboratoire par ponction du plexus ophtalmique. Compt. rend. Soc. de biol. **145**:1465-1466, 1951.

7 — JACOBS, L. — The biology of *Toxoplasma*. Am. J. Trop. Med. & Hyg. **2**:365-389, 1953.

8 — JONES, F. E.; EYLES, D. E.; COLEMAN, N. & GIBSON, C. L. — A comparison of methods for the isolation of *Toxoplasma* from suspected hosts. Am. J. Trop. Med. &

9 — LAINSON, R. — Toxoplasmosis in England. II. Variation factors in the pathogenesis of *Toxoplasma* infections: the sudden increase in virulence of a strain after passage in multimammate rats and canaries. Ann. Trop. Med. **49**:397-416, 1955.

10 — NOBREGA, P.; TRAPP, E. E. & GIOVANNONI, M. — Toxoplasmose epizoótica em coelhos. I. Ação da sulfadiazina. Ciência & Cultura **4**:134-135, 1952.

11 — NUSSENZWEIG, R. S. — Toxoplasmose. Inquérito sorológico feito pela prova do corante, em doadores de sangue. Hospital, Rio de Janeiro **51**:723-728, 1957.

12 — NUSSENZWEIG, R. S. & DEANE, M. P. — Estudos sôbre a transmissão do *Toxoplasma gondii*. I. Experiências com triatomíneos. Rev. brasil. de Mariol. e Doenças trop. **10**(4), 1958.

13 — SABIN, A. B. & FELDMAN, H. A. — Dyes as micro-chemical indicators of a new immune phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science **108**:660-663, 1948.

Recebido para publicação em 28 de maio de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):129-137, julho-agôsto 1959

A REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO PERIOVULAR NA ESQUISTOSSOMOSE

II — CORRELAÇÃO AOS DADOS CLÍNICOS

Kurt KLOETZEL

RESUMO

A fim de verificar o comportamento da reação periovular na clínica da esquistossomose, o A. utilizou ovos de *Schistosoma mansoni* obtidos da parede intestinal de camundongos experimentalmente infestados. Os ovos maduros e viáveis comportaram-se sempre do mesmo modo, independentemente da duração do parasitismo.

Inicialmente, a reação foi testada com soros de 30 camundongos infestados e cuja autópsia permitia estimar o grau de parasitismo existente.

O anticorpo responsável pela reação periovular é de aparecimento precoce e, por vêzes, simultâneo com a eliminação de ovos nas fezes, dando índices da mesma grandeza quer o parasitismo conte com menos de 90 dias ou com mais. Os índices eram, porém, significativamente mais elevados nos animais com grande infestação que nos pouco parasitados, indicando ser esta reação, com tôda probabilidade, de natureza quantitativa.

Contudo, o camundongo não parece ser o melhor animal para estas experiências, em vista dos baixos títulos da reação, quando comparados com os de soros humanos ou de cobaia.

Em 55 soros humanos de pacientes sem esquistossomose, houve apenas 1 falso positivo; ocorreram, por outro lado, 3 falsas reações negativas em 80 doentes com diagnóstico comprovado.

Em 3 casos de infestação recente, 2 dos quais contavam apenas 3 meses de doença os resultados foram positivos.

Em 38 dos pacientes submetidos a tratamento, a queda dos índices ocorreu cedo, descendo para níveis baixos (em tôrno de 3,4) 15 a 30 dias após a última dose de medicamento. Conservaram-se altos apenas em 3 casos com coproscopias negativas.

O índice, entre doentes não tratados, acusou valores médios de 14,1 para casos de pequena, 19,8 para os de média e 32,4 para os de grande infestação.

Usando a abundância de ovos nos exames coprológicos como critério do grau de parasitismo, encontrou-se também sensível diferença entre os casos leves e os mais intensos.

No entanto, o mesmo não se notou ao separar os tipos clínicos hépato-intestinais dos hépato-esplênicos, pois as diferenças não foram significantes.

Nos casos individuais a reação é apenas grosseiramente quantitativa. Em pacientes com poucos ovos nas fezes e índices elevados não é impossível que os ovos do helminto estejam sendo postos em camadas mais profundas do intestino ou em sítios ectópicos, sua eliminação pelas fezes sendo por isso obstada.

Um índice maior do que 10 deve ser tido como sinal de esquistossomose em atividade. Admite, enfim, que esta reação expresse não a história pregressa da doença mas a quantidade de ovos que se encontram no organismo, naquele momento.

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Inst. Med. Tropical — Dep. de Parasitologia (Prof. A. D. F. Amaral).

KLOETZEL, K. — A reação de precipitação periovular na esquistossomose. II. Correlação aos dados clínicos. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:129-137, 1959.

INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior [1] investigamos a natureza da reação de precipitação periovular (reação de OLIVER-GONZÁLEZ), padronizamos a sua técnica e leitura. Na esperança de verificar nesta reação uma expressão quantitativa da esquistossomose, utilizamo-nos de um "índice" da intensidade do precipitado. Em seu cômputo entram as três variáveis da reação: número de prolongamentos, comprimento dos prolongamentos e proporção dos ovos maturos e viáveis que não reagiam com o sôro.

Cumpria aplicar esta reação em clínica humana. É o que fizemos no presente trabalho, utilizando-nos de um grupo de 173 doentes *.

MATERIAL E MÉTODOS

A técnica empregada foi aquela descrita em nosso primeiro trabalho, ressalvando-se apenas a técnica de obtenção dos ovos do helminto. Seguindo a sugestão de BRENER [2], passamos a utilizar como fonte o intestino dos camundongos infestados, órgão mais rico em ovos livres de granulomas que o fígado. O intestino era aberto, lavado em água corrente e estendido sôbre uma placa de vidro. Com uma lâmina de barbear raspávamos a mucosa e submucosa e homogenizávamos em liquidificador. Alguns ensaios preliminares mostraram que ovos do fígado e do intestino comportavam-se de maneira idêntica na reação.

Os soros humanos eram conservados em congelador e utilizados no máximo 10 meses após a colheita.

A obtenção do sôro dos camundongos era realizada por sangria do animal anestesiado. Dissecávamos o cavo axilar, seccionávamos a artéria subclávia e com uma pipeta retirávamos o sangue da cavidade, deixando-o coagular sôbre um vidro de relógio, em umidade elevada. O sôro era conservado em tubos de 1 ml.

Praticamos a reação com o sôro de 30 camundongos. Em 24 animais dêste grupo, cuidadosa autópsia foi realizada, avaliando-se o grau de infecção pela quantidade de granulomas no fígado. O critério utilizado para caracterizar as infecções de pequena, média e grande intensidade era estritamente comparativo e não nos preocupamos em efetuar a contagem dos granulomas. A ovoposição no fígado era grosseiramente paralela ao número de vermes adultos, ovos na parede do intestino e eliminação de ovos pelas fezes. O pêso do fígado e baço não parece depender sòmente da intensidade de infecção; êste assunto será analisado em trabalho posterior, completadas as observações atuais com o resultado de experiências ora em andamento.

OLIVER-GONZÁLEZ afirmou que influía sôbre a reação a duração da infecção no animal fornecedor de ovos de *S. mansoni* [3]. Já anteriormente havíamos discordado [1], recorrendo a considerações teóricas. No momento presente podemos objetivar o nosso ponto de vista, à base de 19 reações feitas com um sôro-testemunho, utilizando ovos de animais sacrificados em épocas variadas, de 60 a 221 dias após a infecção com cercárias de *S. mansoni*. Os resultados foram surpreendentemente homogêneos: as 19 reações com o sôro nº 165 resultaram num índice médio de 12,4, com extremos de variação entre 11,0 e 13,6 e um desvio-padrão de $\pm 0{,}97$. Uma única conclusão nos é lícita: todos os ovos maturos e vivos comportam-se da mesma maneira, não importando a idade da infecção.

RESULTADOS

Reação com sôro de animais de laboratório

Em sôro de camundongo o aspecto do precipitado periovular é diferente daquele visto em sôro humano; com freqüência, os precipitados, sempre globulares, fundem-se em grandes aglomerados, tornando difícil a leitura (Fig. 1).

O anticorpo responsável pela reação é de aparecimento precoce. Já com 50 dias após infecção tivemos oportunidade de verificar a positividade, o índice num animal sendo de 2,6 e noutro de 5,0. Se considerarmos

* A maior parte dos doentes são da enfermaria e ambulatório da Clínica de Moléstias Tropicais e Infectuosas do Hospital das Clínicas (Serviço do Prof. J. A. Meira).

que os nossos animais apresentavam fezes positivas em média no 46º dia, é realmente surpreendente a presteza com que a sorologia acompanha a postura de ovos.

Agrupamos os nossos 24 animais autopsiados, de acôrdo com a severidade da infecção pelo *S. mansoni*, em 3 grupos, encontrando os resultados referidos no quadro II.

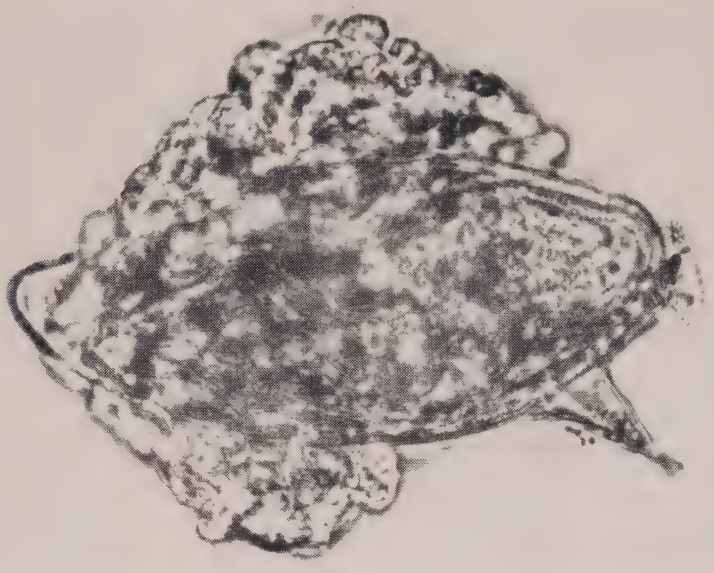


Fig. 1 — Reação de precipitação periovular em sôro de camundongo infectado.
The circumoval precipitation test in the serum of an infected mouse.

Os nossos 30 animais foram divididos em dois grupos, dependendo da antigüidade de sua infecção. Ambos os grupos eram semelhantes quanto ao número de animais pouco, medianamente e intensamente infectados. Os resultados são apresentados no quadro I.

Êstes dados permitem-nos considerar irrelevante a duração da infestação em animais semelhantemente infestados.

A diferença entre os índices médios da grande e pequena infestação resulta em 5 vêzes o êrro-padrão desta diferença, autorizando-nos a afirmar que com tôda a probabilidade a reação de precipitação periovular é uma reação quantitativa.

O camundongo não é o animal de escolha para estas pesquisas; a par das dificuldades na leitura, já mencionadas, os índices são

QUADRO I

Resultados da reação de precipitação periovular em 2 grupos de camundongos, segundo a duração da infestação esquistossomótica

Animais		*Reação periovular*		
Grupo	*Duração da infestação (dias)*	*Nº de reações*	*Índice médio*	*Desvio-padrão*
A	Menos de 90	15	5,8	± 1,1
B	Mais de 90	15	5,9	± 1,2

QUADRO II

Resultados da reação de precipitação periovular em sôro de camundongos, segundo a intensidade da infestação esquistossomótica

Animais		*Reação periovular*		
Grupos	*Intensidade da infestação*	*Nº de reações*	*Índice médio*	*Desvio-padrão*
a	Pequena	12	4,3	± 1,3
b	Média	7	5,7	± 1,2
c	Grande	5	8,8	± 1,8

baixos, prejudicando a comparação. A única cobaia de que nos servimos, a despeito de moderada ovoposição, já no 50º dia após a imersão em água poluída mostrou um índice de 17,9. A autópsia mostrou que êste animal albergava uns 500 vermes, a metade ainda formas jovens.

A nossa investigação infelizmente não foi completa; para levá-la a têrmo lógico necessário seria a sorologia em casos de infecção unissexuada, bem como após o tratamento esquistossomicida.

Reação com sôro de pacientes

1. — *Infestações recentes.* — Apenas três casos puderam ser estudados, dois dos quais ainda em fase aguda da esquistossomose mansônica:

a) Menina de 2 anos, nascida em Alagoas, há um ano residindo num bairro de São Paulo. Fezes ricas em ovos de *S. mansoni*, hépato-esplenomegalia, eosinofilia sanguínea. Índice 37,3.

b) Rapaz de 12 anos, um dos casos autóctones do bairro do Tatuapé (São Paulo). Infecção datando de 3 meses. Eliminação abundante de ovos, eosinofilia sanguínea. Índice 6,1.

c) Rapaz de 14 anos, irmão do anterior, provàvelmente infectado na mesma ocasião. Neste paciente o período de incubação mostrou-se mais curto, a eliminação de ovos maior, a hépato-esplenomegalia mais pronunciada. Enquanto a biopsia hepática, no caso anterior, não revelasse maiores alterações, neste paciente evidenciou fibrose nos espaços portais, bem como um granuloma. A dosagem das proteínas plasmáticas mostrou inversão da relação A/G. Índice 15,6.

2. — *A reação no contrôle de cura.* — Em 38 pacientes efetuamos a reação após o tratamento com antimoniais. Todos êstes casos foram controlados com repetidas coproscopias e uma biopsia das válvulas de Houston (3 fragmentos) feita o mais precocemente 3 meses após o término da série de injeções.

a) Sucessos terapêuticos — A negativação após o tratamento é precoce. Uma reação feita 8 dias depois da última injeção resultou num índice de 36,0. Duas outras, feitas aos 15 dias, revelaram 3,6 e 6,0, e aos 30 dias, em dois outros pacientes, 4,0 e 7,0.

Em 17 indivíduos com tratamento datando de um mês a um ano o índice médio foi de 3,2. Em 8 casos vistos mais de um ano após a terapêutica o índice médio foi de 3,5.

b) Fracassos terapêuticos — O sôro de três doentes, tratados 1, 2 e 7 meses antes da colheita do sangue e com fezes positivas para *S. mansoni*, 3 meses após o término da série, forneceram índices de respectivamente 22,0, 15,0 e 20,2. Mas nem sempre se revelam por índices elevados os fracassos do tratamento específico, uma vez que dependem essencialmente da ovoposição, por sua vez função de número de casais de *S. mansoni* presentes. Como exemplo poderemos citar o caso de dois irmãos provenientes e infectados em Palmital (Estado de São Pau-

lo), foco pouco importante e no qual puderam adquirir uma infestação apenas discreta. A ambos foi dada uma série de Triostib 6½ meses antes e desde esta data mantiveram-se a salvo de reinfestação. Um novo contrôle de ambulatório revelou fezes ainda positivas para *S. mansoni* e índices de precipitação periovular de 6,8 e 9,0.

c) Fracasso da reação? — Neste grupo de 38 estão compreendidos 3 pacientes que conservaram os seus índices elevados, apesar da persistente negatividade dos exames de fezes sugerir cura parasitológica. Os soros colhidos 6, 8 e 16 meses após o término da série revelaram índices de respectivamente 18,0, 20,0 e 15,0.

3. — *A reação em pacientes sem esquistossomose.* — Aproveitando-nos do sôro de doentes internados no Hospital das Clínicas por outras doenças, efetuamos 55 reações. O mais jovem dos pacientes tinha 2 meses, o mais velho 65 anos.

Com uma exceção apenas, tôdas as reações foram negativas.

A falsa reação positiva forneceu-nos o sôro de um menino de 14 anos, portador de febre reumática e procedente de São Caetano do Sul (Estado de São Paulo). Três exames de fezes foram negativos. A reação de precipitação periovular, repetida diversas vêzes, forneceu-nos um índice médio de 9,4.

Em 11 doentes empregamos a reação com finalidades diagnósticas, tratando-se em todos os casos de nordestinos internados no Pronto Socorro com hematêmeses copiosas. A negatividade da reação encontrou posterior confirmação por coproscopia, biopsia retal e intradermorreação.

4. — *A reação em indivíduos com esquistossomose mansônica não tratada.* — Dêste grupo participam 80 pacientes, o mais jovem com 11 anos, o mais velho com 53. Longe das áreas endêmicas raramente temos a oportunidade de ver crianças de baixa idade com esquistossomose, o que explica a sua ausência desta série.

A simples positividade do exame de fezes nada diz da gravidade da infecção; o melhor critério para avaliarmos o vulto da infestação será sem dúvida a contagem dos ovos eliminados com as fezes, conduta que, pelo menos para finalidade de pesquisas, deveria ser adotada com mais freqüência. Em apenas 20 dos pacientes dêste grupo pudemos pessoalmente fazer a coproscopia, sendo a ovoposição por nós classificada de negativa a ++++. Nos demais pacientes tivemos que lançar mão de critérios sem dúvida criticáveis, para avaliarmos a grandeza da sua infestação. Baseamo-nos em alguns casos na riqueza em ovos da biopsia das válvulas de Houston (3 fragmentos), noutros no número de exames de fezes positivos dentro do total de coproscopias feitas, em outros casos ainda na nossa interpretação da eficiência com que o exame de fezes foi realizado. O índice médio das 80 reações foi de 19,0 (Quadro III).

QUADRO III

Resultados da reação periovular em pacientes com esquistossomose não tratada, segundo a intensidade da infestação

Pacientes		*Reação periovular*		
Grupo	*Intensidade da infestação*	*Nº de reações*	*Índice médio*	*Desvio-padrão*
1	Não pôde ser avaliada	23	—	—
2	Pequena	24	14,1	± 10,2
3	Média	20	19,8	± 10,4
4	Grande	13	32,4	± 9,3
Total	—	80	19,0	—

Os resultados com os 20 doentes cujas fezes examinamos pessoalmente vêm expressos no quadro IV.

3. — Homem de 44 anos. Fazes, biopsia das válvulas de Houston, negativas. Intradermorreação muito positiva. Índice 15,1.

QUADRO IV

Resultado da reação periovular em pacientes com esquistossomose não tratada, segundo a abundância de ovos eliminados nas fezes

Pacientes		*Reação periovular*		
Grupo	*Abundância de ovos na coproscopia*	*Nº de reações*	*Índice médio*	*Desvio-padrão*
1	Negativa	5	5,4	± 3,3
2	+	2	13,7 (10,4 e 17,1)	—
3	++	6	29,6	± 12,2
4	+++	5	32,3	± 11,1
5	++++	2	26,5 (19,8 e 33,3)	—
Total	—	20	—	—

Dividimos os nossos doentes em dois grupos: aquêles com a forma intestinal ou hépato-intestinal da doença, aquêles com a forma hépato-esplênica. A diferença entre os índices médios dos grupos foi pequena, sem significado estatístico.

Três falsas reações negativas devem ser assinaladas:

1. — Mulher de 50 anos, afastada há mais de um decênio da Bahia, com fezes moderadamente ricas em ovos de *S. mansoni*.

2. — Mulher de 22 anos, vinda da Bahia há 3 meses, gestante de 3º mês, fezes moderadamente ricas.

3. — Homem de 31 anos, há 7 anos vindo de Alagoas, fezes pobres em ovos do helminto.

Três outros casos merecem menção, exemplificando índices relativamente elevados com eliminação de poucos ovos pelas fezes:

1. — Homem de 51 anos. Fezes examinadas por nós, encontradas repetidamente negativas. Intradermorreação positiva. Índice 32,0.

2. — Homem de 51 anos. Fezes cuidadosamente examinadas e negativas; intradermorreação não foi realizada. Índice 26,5.

Note-se que os três indivíduos estão em sua idade média. Discutiremos êste fato mais além.

Julgamos de interêsse citar ainda os seguintes exemplos:

1. — Homem de 44 anos, que há 20 anos abandonara a Bahia, vindo a residir na cidade de São Paulo. A biopsia revelou numerosos ovos mortos e o índice foi de 0.0. Êste paciente nunca fizera tratamento específico. Tratar-se-á de cura espontânea?

2. — Homem de 22 anos, fezes positivas, intradermorreação negativa. Índice 15,4.

3. — Homem de 53 anos, que há 33 anos permanecera 8 meses no Nordeste, em viagem de turismo. A intradermorreação foi positiva, a biopsia retal evidencia raros ovos viáveis. Nunca fizera tratamento da esquistossomose. Índice 6.2.

4. — Dois irmãos, de 13 e 14 anos, há 5 meses vindos da Bahia. Sempre freqüentaram os mesmos lugares de banho e os hábitos eram idênticos. Presume-se pela anamnese que tiveram as mesmas oportunidades de contágio. As coproscopias de ambos mostraram ovos de *S. mansoni* em quantidade média e em ambos os casos o índice da reação foi 23,0.

DISCUSSÃO

A reação de precipitação periovular é uma reação grosseiramente quantitativa. É bem possível que, fôssem mais fiéis os dados disponíveis para a avaliação da quantidade total de ovos de *S. mansoni* no organismo do hospedeiro, a reação se revelaria menos "grosseira". Não consideramos estas investigações ponto final do problema e tentaremos completá-las com outros dados, utilizando outro animal que o camundongo.

O índice da reação cai ràpidamente após o tratamento específico eficaz, o que leva a crer que a reação espelha não o número de ovos eliminados pelo paciente em sua longa carreira mórbida mas provàvelmente não indique outra coisa que o número de ovos vivos presentes no organismo em dado instante. Numa tentativa de relacionar a idade de nossos pacientes com o índice médio do grupo não conseguimos mostrar diferença significativa, fato já antecipado por nossos resultados experimentais no camundongo.

Nos camundongos infestados em laboratório é freqüente o encontro de grande número de ovos em diferentes fases de formação de granuloma nas camadas mais profundas do intestino, mesmo na ausência de fezes positivas (Fig. 2). Êste fato ocorre mais corriqueiramente passados os primeiros meses da infecção. Poderá ocorrer o mesmo em humanos? Alguns autores falam em "esclerose do reto" nos indivíduos infestados muitos anos antes. A queda do índice de infestação acima de 40 anos, fato que se repete em quase todos os trabalhos sôbre a epidemiologia da helmintose, pode ser reflexo não sòmente de uma inibição na postura; e é perfeitamente possível que os nossos três casos, com coproscopia negativa mas índices relativamente elevados, possam enquadrar-se no esquema de uma persistência de postura do *S. mansoni* sem que haja eliminação de ovos com as fezes. Pensamos que um índice acima de 10,0 deva ser tomado como sinal de uma oviposição ativa, mesmo que o exame de fezes ou a biopsia retal sejam negativos.

É óbvio que, no que diz respeito às 4 falsas reações, não pudemos eliminar de todo a possibilidade de uma troca ou contaminação dos soros, se bem que tôdas as precauções foram tomadas para impedir semelhantes acidentes.

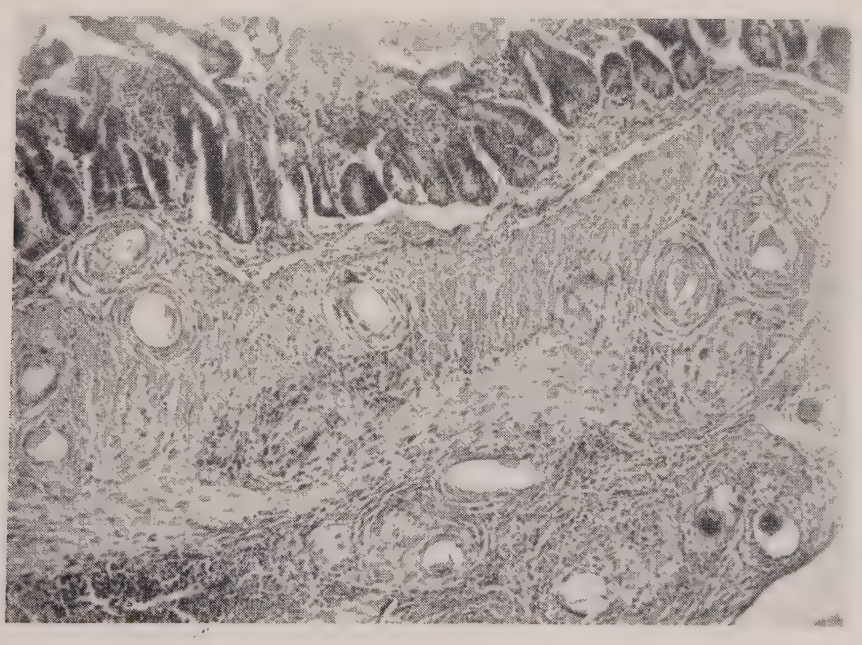


Fig. 2 — Corte do intestino de um camundongo infectado, já não mais eliminando ovos nas fezes.
Intestinal wall of a mouse with negative stools at time of autopsy.

A evidência por nós apresentada é insuficiente para justificar se encare mais sèriamente o emprêgo desta reação sorológica em clínica humana. O seu verdadeiro campo de aplicação seria o contrôle precoce da cura parasitológica, de vez que, em confronto com outras provas, de negativação lenta, reflete com notável rapidez a interrupção na postura. Não fôssem as dificuldades inerentes à obtenção dos ovos de *S. mansoni* e não hesitaríamos em recomendar o emprêgo amplo da reação de OLIVER-GONZÁLEZ; acreditamos que a coproscopia bem feita possa substituí-la com vantagem, pelo menos em indivíduos de menos de 40 anos, nos quais supostamente não se dá oviposição sem que os ovos do helminto apareçam nas fezes.

Poderá a reação de precipitação periovular ser tomada como índice da "gravidade" da infestação? Apenas se "gravidade" fôr sinônimo de oviposição, teve que será ainda por muito tempo tema de vivos debates. Para o clínico as formas graves da esquistossomose mansônica independem da abundância de ovos nas fezes, sendo reflexo tão sòmente do comprometimento do parênquima hepático e da hipertensão portal a êle ligado. E não sabemos se as lesões hepáticas correm paralelamente ao número de vermes albergados pelo sistema portal; no momento atual poderíamos responder negativamente a êste quesito.

CONCLUSÕES

1. — A positividade da reação é precoce, aparecendo em alguns animais quase concomitantemente à eliminação de ovos. Em 2 meninos, infestados 3 meses antes, títulos significativos foram registrados.

2. — O índice baixa com rapidez após o tratamento específico eficaz. Já 15 dias depois da última injeção verificamos índices baixíssimos.

3. — Acreditamos que um índice acima de 10,0, mesmo na ausência de ovos nas fezes, deva ser interpretado como oviposição persistente.

4. — Dentre 55 reações feitas em doentes sem esquistossomose apenas pudemos registrar uma única falsa reação positiva.

5. — Em 80 pacientes com esquistossomose comprovada verificamos 3 falsas reações negativas.

6. — O índice da reação reflete aproximadamente a oviposição. Verificamos diferenças estatìsticamente significativas entre os grupos com baixa e elevada eliminação de ovos pelas fezes.

7. — Não nos foi possível verificar diferenças significativas entre os grupos com e sem esplenomegalia.

8. — A antigüidade da infestação não parece afetar o índice da reação ,que a nosso ver depende essencialmente do número de ovos vivos no organismo em dado instante.

SUMMARY

The circumoval precipitation test in schistosomiasis. II. Correlation to clinical data.

In a previous paper we investigated the circumoval precipitation test (OLIVER-GONZÁLEZ [3]) and the variables that would affect the reaction. With the purpose of testing this reaction as a quantitative expression of schistosome infection, we standardized methods of reading and employed a numerical "index". This index takes into account the following factors: number of projections around ova, their maximum length and percentage of viable ova that do not show any precipitate.

In the present paper we employ these criteria in evaluating the CPT of 173 human and 31 laboratory animal sera.

The white mouse does not seem to be the ideal animal for laboratory investigations. Not only are the indexes low as compared to humans (an average of 5.7 for medium infections) but the precipitate is globular, often fused into large masses, thereby hindering readings. The only guinea pig used showed an index of 17.9 as soon as the 50th day after infection and this seems to be an animal better suited for these purposes.

Our results may thus be summarized:

1. We did not find that the age of the infection of the mice from which the ova were obtained were relevant. All mature and viable ova behave similarly.

2. The CPT appears soon after infection and in some animals is simultaneous with the elimination of eggs in the stools. In two boys, infected 3 months previously, indexes of 6.1 and 15.6 were seen.

3. The index falls very rapidly after successfull treatment and as soon as 15 days after the last injection very low indexes were found. The average index of those treated one month before was 3.4.

4. In animals similarly infected the age of the infection did not affect the readings.

5. Only a single false positive was seen in a group of 55 patients without schistosomiasis.

6. Three false negatives were obtained in a group of 80 patients with proven schistosomiasis.

7. Both in animals and humans significant differences were found between the average indexes of groups of lightly and heavily infected individuals, as judged by the elimination of ova in humans and the number of granuloma in animals.

8. In individual cases the CPT is only roughly quantitative. The patients with few ova in their stools but a high index are usually after their forties and we admit that in these cases ova are still being deposited in the deeper tissues of the intestines or in ectopic sites, anatomical or immunological factors hindering their elimination in the stools. An index of more than 10.0 should be taken as a sign of active schistosomiasis. Further research is needed to prove if the CPT is not a more sensitive criteria for active survival of the flukes than the egg count, either in animals that do not eliminate ova with their stools or humans after their prime of life.

9. We assume that the CPT does not express the past history of the infection but only the number of live ova in the body at the time of the experiment.

10. We could not find any significant differences in average index between groups with and without splenomegaly.

REFERÊNCIAS

1 — KLOETZEL, K. — A reação de precipitação periovular na esquistossomose. I. Investigações sôbre a natureza da reação. Rev. Brasil. biol. **19**(1):75-85, 1959.

2 — BRENER, Z. — Observações sôbre a infecção de camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. Rev. Brasil. Malariol. **8**(4):565-575, 1956.

3 — OLIVER-GONZÁLEZ, J. — Anti-egg precipitins in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni*. J. Infect. Dis. **95**(1): 86-91, 1954.

Recebido para publicação em 26 de junho de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):138-140, julho-agôsto 1959

DIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE. MODIFICAÇÕES DO MÉTODO DE BAERMANN-MORAIS

Francisco Ferriolli Filho [1]

RESUMO

O A. aconselha o método de Morais [5] modificado por Coutinho & col.[1] no qual suprime a gaze e substitui a tela metálica de malhas largas por uma tela de malhas finas. Para as fezes diarréicas ou semi-líquidas, propõe forrar a tela com lenço-papel, que evita a passagem de detritos fecais e não impede, pelo menos na grande maioria dos casos, a passagem das larvas rabditóides do *Strongyloides stercoralis*.

INTRODUÇÃO

Embora alguns autores (Silva [6], Jones [3]) assinalem a superioridade da intubação duodenal sôbre o exame de fezes para o diagnóstico da estrongiloidíase, os estudos comparativos de Coutinho & col.[2] demonstram o inverso, isto é, o exame de fezes fornece resultados superiores aos da intubação duodenal, desde que o método usado naquele exame seja adequado.

Entre os métodos empregados, a adaptação do aparelho de Baermann feita por Morais [5] reune a preferência dos pesquisadores modernos (Coutinho & col.[1], Mercer [4]). Seu autor verificou que êle é 3,3 vêzes superior ao da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco. Coutinho & col.[1] mostraram que êle revela maior percentagem de casos positivos que o método direto, o de sedimentação e o da placa de Petri, êste último por êles imaginado. A experiência do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto tem demonstrado, no decurso dos anos, que o método de Morais [5], modificado por Coutinho & col.[1] é superior ao direto, ao da sedimentação e ao da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco.

Êste método tem, porém, sérios inconvenientes resultantes do emprêgo de um retalho de gaze sôbre a tela metálica: a) a gaze, mesmo quando dobrada, não retém pequenas partículas de fezes, que vão se acumular no fundo do funil, isto acontecendo, às vêzes, mesmo quando as fezes são formadas; b) a gaze embebe-se na água e se contamina com as fezes (e larvas presentes), requerendo remoção com pinça para evitar a infestação do operador; c) a gaze molhada, em virtude da espessura dos fios, oferece maior obstáculo à passagem das larvas que eventualmente ficam retidas sem cair no fundo do funil; d) o uso da gaze em si representa uma complicação e encarece o método. Por outro lado, as fezes ficam expostas ao ar, o que não deixa de ser inconveniente, além de anti-estético.

MODIFICAÇÕES DO MÉTODO E RESULTADOS

Imaginamos, então, suprimir o retalho de gaze e substituir a tela de malhas largas por uma de malhas finas, suficientemente finas para impedir a passagem de partículas fecais, mas capazes de permitir a travessia pe-

Fac. Med. de Ribeirão Prêto, São Paulo. Dep. de Parasitologia (Diretor: Prof Mauro Pereira Barretto).

(1) Auxiliar de Ensino.

las larvas. Usamos uma tela de cobre ou latão de 35 malhas por cm, montada em um arco circular de cêrca de 10 cm de diâmetro, dotado de um cabo destinado a facilitar as manipulações. Êste dispositivo é adaptado ao funil munido de pipeta, como aconselham COUTINHO & col [1], de tal modo que a tela fique submersa, isto é, a cêrca de dois ou três milímetros abaixo do nível da água. Sôbre a tela colocam-se aproximadamente 10 g de fezes. Para obviar os inconvenientes da exposição das fezes ao ar, cobrímo-las, invertendo sôbre elas uma latinha de diâmetro um pouco inferior ao da tela metálica. Esta latinha deve ter um ou dois orifícios para dar saída ao ar, evitando-se, assim, que se forme uma câmara de ar cuja pressão faz com que a água sôbre a tela se afaste do contacto com as fezes. A peneira metálica que usamos é fàcilmente lavável, pode ser esterilizada mediante ligeira flambagem, sempre que necessário, e é extremamente resistente.

Procurando verificar se as modificações introduzidas alterariam os resultados, examinamos simultâneamente pelo método de COUTINHO & col.[1] e pela nossa modificação, 30 amostras diversas de fezes contendo larvas em quantidades variáveis. Os resultados foram idênticos, isto é, ambos deram 100% de positividade e revelaram o mesmo número de larvas em cada amostra.

O método de MORAIS [5] com as modificações mencionadas dá bons resultados quando as fezes são sólidas ou pastosas. Quando, porém, estas são líquidas ou semi-líquidas (eventualidade relativamente freqüente nos casos de estrongiloidíase), detritos pequenos atravessam tanto a gaze quanto a tela metálica fina e vão se acumular no funil, sendo recolhidos juntamente com as larvas e dificultando o encontro destas ao exame microscópico. Muitas vêzes a quantidade de detritos é tal que a visualização das larvas se torna impossível, dada a turvação da água em que se encontram.

Procurando contornar esta dificuldade resolvemos verificar se as larvas do *S. stercoralis* seriam capazes de atravessar um retalho de papel suficientemente compacto para reter as partículas fecais finas, papel êste intercalado entre as fezes e a tela metálica. Ensaios preliminares nos revelaram tal capacidade por parte das larvas. Experimentamos então vários tipos de papel: papel-filtro de várias porosidades, papel higiênico e lenço-papel "Yes" fabricado pela firma Johnson & Johnson. Êstes dois últimos deram resultados satisfatórios, permitindo a passagem de maior número de larvas e em maior número de casos; o papel higiênico, mesmo de boa qualidade, é frágil e se rompe com facilidade, de maneira que nossa escolha recaiu sôbre o lenço-papel.

Procurando verificar se a intercalação do papel influiria nos resultados, tomamos 35 amostras de fezes, formadas ou pastosas e reconhecidamente positivas para larvas de *S. stercoralis*, e submetêmo-las ao seguinte tratamento: cada amostra com cêrca de 20 g era dividida em duas partes iguais; uma parte era colocada diretamente sôbre a tela metálica e a outra, prèviamente liqüefeita em água, era depositada sôbre um retalho de lenço-papel adaptado à tela metálica, de modo a forrá-la completamente; ambas as partes da mesma amostra eram postas em contacto com a água morna em funis e, após a espera de 60 minutos, as larvas eram recolhidas; os resultados são apresentados no quadro abaixo.

Influência do uso de lenço-papel na positividade de exames para a pesquisa de larvas de *S. stercoralis*, em 35 casos positivos

Tela	*Nº de positivos*	*Percentagem*
Sem papel ...	35	100,0
Com papel ...	29	82,8

Êstes resultados mostram que o uso de papel faz baixar significativamente a percentagem de positividade nas pesquisas de larvas de *S. stercoralis*. Demais, se bem que o fato não seja constante, notamos que o número de larvas era um pouco menor quando usamos o papel.

Assim sendo, o uso do lenço-papel deve ser reservado exclusivamente para os casos de fezes diarréicas, em que a filtração de partículas através da tela metálica torna impraticável o emprêgo do método. Aliás, se bem que o uso do papel faça cair significa-

tivamente a percentagem de positividade, ela é ainda superior àquelas fornecidas pelo exame direto e pela sedimentação, nas mãos de COUTINHO & col.[1] e pelo método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, nas mãos de MORAIS [5].

SUMMARY

Diagnosis of strongiloidiasis. Modification of Baermann-Morais' technique.

A Baermann apparatus, as modified by MORAIS [5] and COUTINHO & al.[1] is used, but a little basket made of a 35 meshes per cm. copper or bronze screening is employed instead of the large mesh screening lined with cheesecloth recommended by the inventor of the method.

Suppression of the cheesecloth renders the technique simpler and more economical. On the other hand, the small mesh screening makes the search for larvae easier because it retains particles of fecal material which would pass through the cheesecloth and produce an annoying turbidity of the water.

When the feces are liquid or semi-liquid, as in a number of cases of strongyloidiasis, a great number of minute particles pass through even small mesh screenings and make the search for larvae practically impossible in the majority of cases.

In order to avoid this inconvenience the basket was lined with tissue paper. Although larvae are retained, this procedure revealed 82.8 percent of known strongyloidiasis infections, a result far better than those given by the sedimentation technique or by the zinc sulphate centrifugal-floatation method.

REFERÊNCIAS

1 — COUTINHO, J. O.; CAMPOS, R. & AMATO Neto, V. — Nota sôbre o diagnóstico e prevalência da estrongiloidose em São Paulo. Rev. clín. São Paulo **27**:1-10, 1951.

2 — COUTINHO, J. O.; CROCE, J.; CAMPOS, R. & AMATO Neto, V. — Estudo comparativo entre a pesquisa de larvas do *Strongyloides stercoralis* no suco duodenal e nas fezes. Valor diagnóstico. Folia clín. & biol. **18**:125-132, 1953.

3 — JONES, C. A. — Clinical studies in human strongyloidiases. I. Semiology. Gastroenterology **16**:743-756, 1950.

4 — MERCER, H. H. — Pesquisa de *Strongyloides* na zona de Rio Prêto. Rev. paulista de med. **39**:382-383, 1951.

5 — MORAIS, R. G. — Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrongiloidose no Brasil. Rev. Serv. esp. Saúde públ. **1**:507-624, 1948.

6 — SILVA, G. S. P. — Strongyloidiase duodenal. Brasil méd. **53**:835-839, 1938.

Recebido para publicação em 11 de julho de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):141-143, julho-agôsto 1959

CULEX (CULEX) DEANEI, NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO *CULEX* LINNAEUS, 1758. (*Diptera, Culicidae*)

Renato R. Corrêa e Gabriel R. Ramalho

RESUMO

Uma nova espécie de *Culex* é descrita, à qual se deu o nome de *Culex (Culex) deanei*. De acôrdo com a chave de Lane, aproxima-se de *Culex corniger*, diferindo pela morfologia do mesosoma. Os sifões respiratórios das larvas também diferem, pois são muito longos em *C. deanei* e curtos em *C. corniger*.

INTRODUÇÃO

Há anos vimos pesquisando os arredores da capital do Estado de São Paulo, Brasil, a fim de conhecer a sua fauna culicidiana. No local denominado Campo de Marte, bairro de Santana, na zona norte da cidade, colhemos numa poça d'água, larvas de culicíneos. Destas, duas eram de *Anopheles albitarsis albitarsis* e as demais pertencentes à tribo *Culicini*. Criamos estas últimas e verificamos tratar-se de uma espécie do gênero *Culex*, que de início identificamos a *Culex (Culex) corniger* Theobald, 1903, mas que, depois de havermos consultado a bibliografia, em especial o trabalho monográfico de Lane [1], e examinado o material da coleção do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, chegamos à conclusão de que se tratava de uma espécie nova que descrevemos aqui e denominamos *Culex (Culex) deanei* sp. n., prestando dêsse modo uma homenagem sincera ao nosso prezado amigo Dr. Leônidas M. Deane.

CULEX (CULEX) DEANEI *sp. n.*

FÊMEA

Cabeça — Probóscida escura, entumecida no têrço apical, um pouco mais curta que o fêmur anterior; palpo da côr da probóscida e com uma vez e meia o comprimento do clípeo; êste, castanho escuro; antenas quase tão longas quanto a probóscida; occipício revestido de escamas claras e castanho escuras, estas bifurcadas no ápice.

Tórax — Lobo pronotal anterior com tegumento castanho claro, recoberto de algumas escamas claras e cerdas escuras; mesonoto com o tegumento castanho escuro recoberto de escamas escuras; na região pré-escutelar as escamas são esbranquiçadas; cerdas pré-escutelares escuras; escutelo trilobado, apresentando em cada lobo escamas claras e cerdas escuras; metanoto castanho claro, brilhante; balancim com haste e capítulo escuro; pleuras com tegumento castanho claro e com algumas manchas de escamas claras. Asa recoberta de escamas estreitas e escuras.

Pernas — Pernas anteriores escuras exceto na porção ventral do fêmur e quanto à presença de anéis claros na porção fêmuro-tibial, tíbio-tarsal e nas articulações tarsais do 1º para o 2º e do 2º para o 3º; pernas médias e posteriores iguais às anteriores. Há variações, pois o 4º e o 5º artículos tarsais às vêzes também apresentam anéis.

Abdome — Com tergitos escuros, com uma faixa estreita basal de escamas brancas.

Serviço de Profilaxia da Malária do Estado de São Paulo.

MACHO

Semelhante à fêmea, exceto quanto à probóscida, que apresenta um anel branco mediano, os palpos que são longos e as antenas que se mostram plumosas.

Genitália — Basistilo cônico, encurvado, com quase duas vêzes e meia a maior largura basal; lobo apical não muito pronunciado, possuindo na divisão inferior 3 cerdas grossas implantadas em tubérculos, sendo as duas superiores mais grossas, em gancho, e a inferior reta, mais curta; na divisão superior verifica-se a existência de uma fôlha larga e duas cerdas finas, implantadas em tubérculo (Fig. 1).

Mesosoma (Fig. 2) com as placas medianas arredondadas, possuindo nas margens internas uma fileira de dentes pequenos e pontiagudos; lamelas curtas, situadas na parte central.

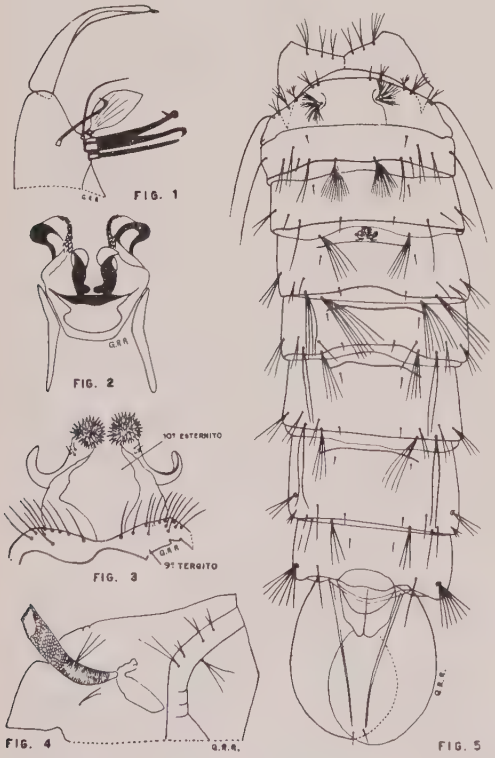
Nono tergito com 9 a 12 cerdas de cada lado (Fig. 3). Décimo esternito como na fig. 3.

PUPA

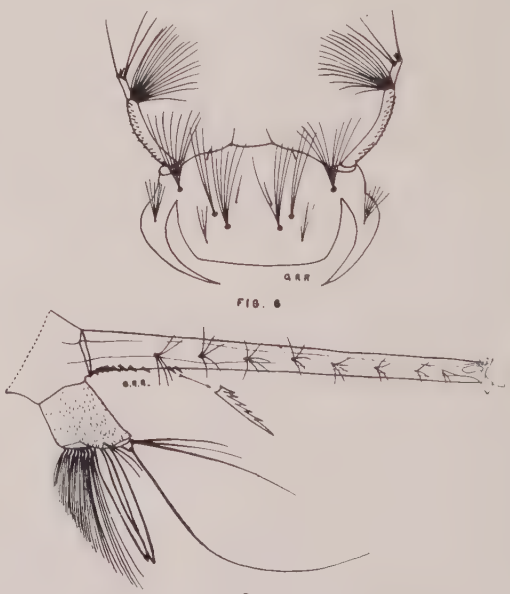
Trompetas inteiramente quitinizadas (Fig. 4). Cefalotórax, metatórax e abdome com quitinizações e quetotaxia de acôrdo com as figuras 4 e 5. Palhetas natatórias ovaladas, com duas vêzes e meia o comprimento do 8º segmento (Fig. 5).

LARVA

Cabeça quase retangular; antena longa, mais fina no têrço apical que é quitinizado; recoberta de espinhos curtos nos dois têrços basais, com anel fortemente quitinizado na base; tufo antenal grande, situado no têrço apical, com cêrca de 14 folíolos; cerdas préclipeais curtas e lisas; clipeais anteriores pequenas e lisas; clipeais posteriores simples e lisas; frontais externas com 8 folíolos; médias com 3 e internas com 5 a 6 (Fig. 6); as occipitais externas ramificadas e as internas simples e longas.



Figs. 1 a 5 — Culex (Culex) deanei *sp. n.: 1) basistilo e dististilo; 2) mesosoma; 3) nono tergito e décimo esternito; 4) cefalotórax da pupa; 5) metatórax e abdome da pupa.*



Figs. 6 e 7 — Culex (Culex) deanei *sp. n.: 6) cabeça da larva; 7) sifão respiratório e lobo anal da larva.*

Sifão respiratório longo, com cêrca de 9 vêzes a largura basal; apresenta lateralmente 8 pequenos tufos com 3 a 5 folíolos; pécten situado no têrço basal com 8 espinhos curtos; lobo anal de forma retangular, recoberto de microtríquias; cerdas dorsais, 3+1 de cada lado; tufos ventrais com numerosas cerdas; folíolos branquiais com quase uma e meia vêzes o maior comprimento do lobo anal, cerda mediana e apical simples ou bífida e curta (Fig. 7).

TIPOS

Holótipo macho, com respectiva terminália e exúvias de larva e de pupa montadas, depositado na coleção entomológica do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Brasil, sob número 13.189. Alótipo fêmea, com respectivas peles de larva e pupa montadas, depositado na coleção acima referida sob número 13.190.

Parátipos machos depositados na coleção do Serviço de Profilaxia da Malária, São Paulo, Brasil, sob números 6.777, 6.779 e 6.782.

Parátipos fêmeas depositados na mesma coleção sob os números 6.778, 6.780 e 6.781.

DISCUSSÃO

Culex (Culex) deanei sp. n., de acôrdo com a chave de LANE [1] (características da genitália masculina), aproxima-se de *Culex corniger*, diferindo dessa espécie pela morfologia do mesosoma (Fig. 2). Os sifões respiratórios das larvas também diferem, pois são muito longos em *Culex deanei* (Fig. 7) e curtos, aproximadamente do comprimento do lobol anal, em *Culex corniger*.

SUMMARY

A new species of *Culex* is described, namely *Culex (Culex) deanei*. According to Lane's key it approaches *Culex corniger*, differing from this by the mesosome's morphology. The breathing tubes of larvae also differ, being very long in *Culex deanei* and short in *Culex corniger*.

REFERÊNCIAS

1 — LANE, J. — Neotropical Culicidae: volume 1. São Paulo, Universidade, 1953.

Recebido para publicação em 23 de abril de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):144-149, julho-agôsto, 1959

MOLLUSCS OF THE GENUS *ONCOMELANIA*, IN BRAZIL, AND THEIR POSSIBLE EPIDEMIOLOGICAL SIGNIFICANCE

LUÍS REY

SUMMARY

Molluscs of the family *Hydrobiidae* (= *Amnicolidae*), very similar to those of the genus *Oncomelania* which transmit schistosomiasis japonica in Asia, were discovered by the A. in the State of Mato Grosso, Brazil, and considered by him a new species: *Oncomelania brasiliensis*. First description of shell and animal is done in this paper.

Their natural habitats were represented by brooks with plenty of vegetation, irrigation ditches and plantations of water-cress (*Nasturtium officinale*). Most of the snails were found submerged but a few could be seen on the wet margins of the breeding places.

The shell is very similar to that of *Oncomelania nosophora*, measuring about 5.5 millimeters in height and 2.2 millimeters in width, and showing six or seven round and smooth whorls, without axial ribs or a varix on the outer lip. This last character distinguishes this shell from that of the Eastern *Oncomelania*.

The dark animal, like the vectors of schistosomiasis japonica, bears the characteristic "false eyebrows" formed by coarse yellowish patches. Operculum and radula as in *Oncomelania*. Gills with 45-50 filaments.

The molluscs are very resistant to desiccation.

The A. was unable to detect any case of schistosomiasis japonica in the region investigated, but as this is settled mostly by Japanese immigrants, who are still coming from Japan, the above finding deserves the most careful attention and further study.

INTRODUCTION

In January 1958, we led a group of students of the Department of Parasitology in a trip to the State of Mato Grosso, for teaching and research purposes. While searching for planorbid snails in a variety of water collections during the trip, we found populations of the family *Hydrobiidae* (= *Amnicolidae*) morphologically resembling the genus *Oncomelania* which in East Asia is responsible for the transmission of *Schistosoma japonicum* (REY & col.[13]). We think they belong to a new species, *Oncomelania brasiliensis*, whose first description is made here.

The counties then visited (Campo Grande, Terenos, Aquidauana, Miranda and Corumbá) are inhabited also by settlers that came from Japan and Okinawa during the last fifty years, and their descendants. Besides, more and more of these excellent agricultural workers are still migrating to the region.

It seems to us that these facts are more than enough to justify our concern over the possibility of *Schistosoma japonicum* establishing itself in this country in case any patients with the disease are brought into the area and the above mentioned *Hydro-*

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Inst. Med. Trop. — Dep. de Parasitologia (Diretor: Prof. A. D. F. Amaral).

biidae snails prove to be potential vectors of the trematode.

We must remember that BERRY & RUE [7] showed that *Pomatiopsis lapidaria* (a *Hydrobiidae* of wide distribution in the United States) is able to transmit schistosomiasis japonica under experimental conditions.

GEOGRAPHICAL AND ECOLOGICAL DATA

The places investigated are situated in Southern Mato Grosso, in counties crossed by the "Estrada de Ferro Noroeste do Brasil" (Northwestern Brazilian Railway).

Campo Grande county is located within the limits of the physiogeographic region called "Vertente Ocidental do Paraná" (Paraná's Western Slope) and the "Região da Encosta" (Slope Region) as well as the "Baixada do Paraguai" (Paraguai's Lowlands), on a plateau 500 meters high and slightly sloping down to the Paraná valley. Basaltic sills have formed spots of "terra rôxa" (red loams on basalt) which are very fertile and where agriculture is taking the place of cattle-breeding. The Plateau's limit is well marked on the West, forming a "cuesta" which encompasses the "pantanal" (swamps) of Mato Grosso, that is to say, the wide alluvial plain periodically flooded by the Paraguay river and its tributaries.

The "pantanal" is an area characterized by cattle-breeding. The counties of Aquidauana and Corumbá are here situated but the towns have been built respectively on the slopes (valley of the Aquidauana river) and on terraces near the Paraguay river.

The climate is hot with low humidity and prevailing summer rains. The flora is made up of two types of vegetation: the "cerrado" (thicket) on the plateau, and the so-called "complexo do pantanal" (swamp complex) on the plains.

The country population is thinly scattered. People concentrate in the towns or neighboring agricultural farms. Cattle-breeding is the main source of income, but in Campo Grande there is plently of agriculture.

The *Hydrobiidae* snails were found in shadowy and swift brooks as well as irrigation ditches and growths of water-cress (*Nasturtium officinale*) (Fig. 13). As a rule they were found side by side with molluscs of the genera *Ampullaria*, *Physa*, *Lymnaea* and *Australorbis*, the latter being represented by only one species — *A. nigricans*.

Most of the *Hydrobiidae* snails were found under water, moving almost imperceptibly on the mud or over algae, plants or decaying vegetable matter. Sometimes they were found under clay at the bottom of the habitat or moving along its banks if these were covered by a film of water.

When not buried in the mud the snails could be seen with relative facility, sometimes by the thousands on a small area, either dispersed or assembled in big colonies. Many of them could be caught at a time by scraping the mud, the roots of aquatic plants or other vegetation, with a fine-mesh sieve.

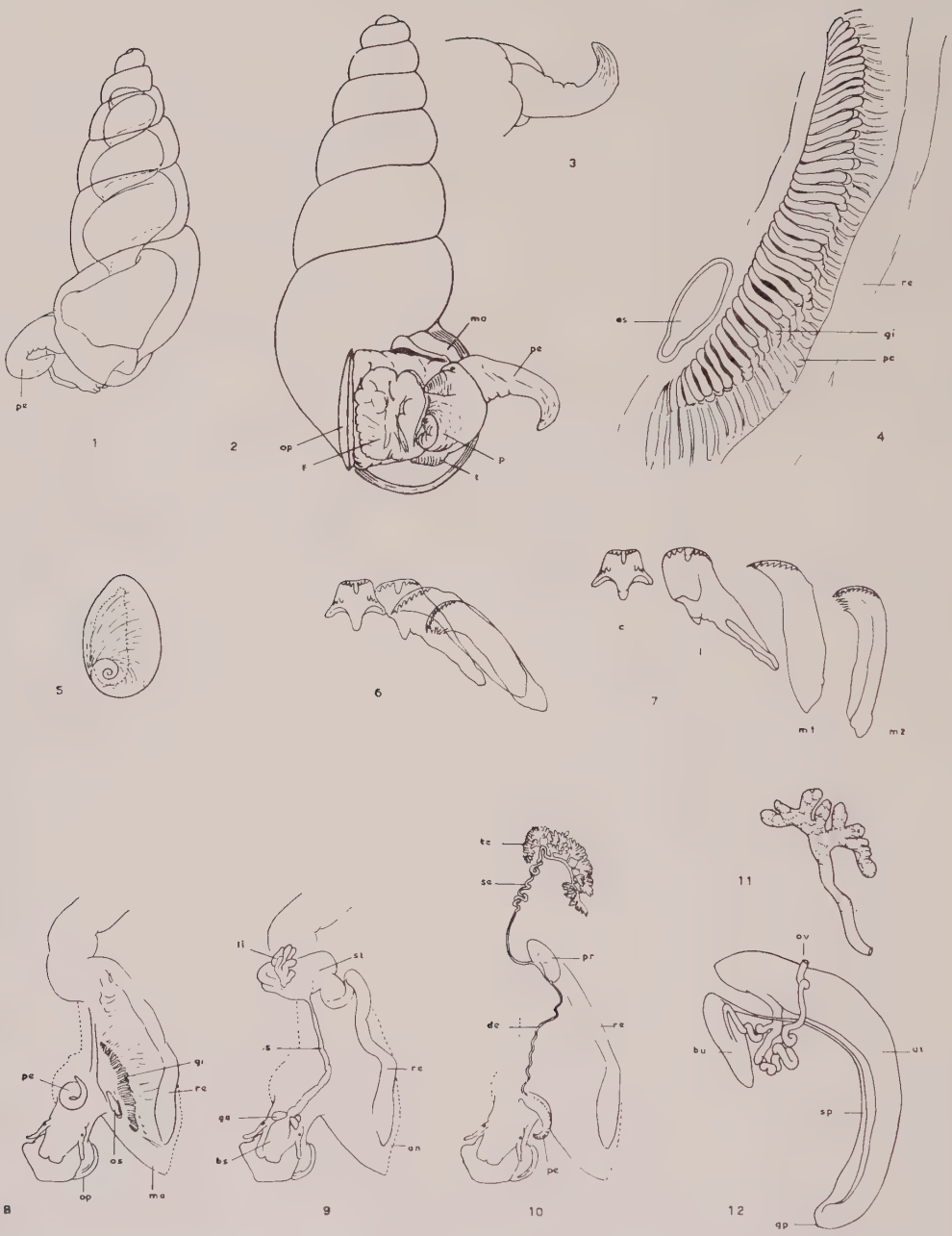
In Campo Grande, *Hydrobiidae* snails were caught in all streams investigated in the Paraguay basin (affluents to Ceroulas and Aquidauana rivers), whereas none was found in tributaries of the Pardo river, which belongs to the Paraná system.

OBSERVATIONS ON THE MOLLUSCS IN LABORATORY

When taken out of water the animals shrink into the shell and survive for two to three weeks or even more. When back in water they resume activity within a few minutes to half an hour. They grow well in aquaria having some soil on the bottom and planty of vegetation, specially algae. A biologically balanced aquarium may be obtained if the soil covering the bottom of the container offers a sloping surface, so as to allow for the presence of something like a beach at one side, and deep water at the other side. This aquarium has to be kept under direct sunlight and the water that evaporates must be periodically replaced.

ONCOMELANIA BRASILIENSIS, *new species*

Shell — dextral, spiral, thin, slender, turreted, colored dark by a thin layer of mud-slime (reddish brown on specimens collected at Campo Grande) or yellowish and translucent (on laboratory reared animals) (Figs. 1 and 2).



Figs. 1 to 12: 1 — Young animal of Oncomelania brasiliensis *reared in the laboratory, with transparent, five-whorls shell. 2 — Adult snail collected at Campo Grande (Mato Grosso); fixed in partially retracted position (as in fig. 1) but showing the verge. 3 — Verge or penis. 4 — Gills and osphradium. 5 — Operculum. 6/7 — Central, lateral and marginal teeth from the second raw of a radula. 8 — Mantle cavity widely open to show the verge, osphradium, gills and rectum. 9 — Digestive system dissected. 10 — Male reproductive system. 11 — Ovary. 12 — Female reproductive organs from oviduct to genital pore.*

an, *anal opening;* bs, *buccal sac;* bu, *bursa or spermatheca;* c, *central or rachidian tooth;* de, *vas deferens;* f, *foot;* ga, *periesophageal ganglia;* gi, *gills;* gp, *female genital pore;* l, *lateral tooth;* li, *liver (only first branches represented);* m 1, *first marginal tooth;* m 2, *second marginal tooth;* ma, *mantle border;* op, *operculum;* os, *osphradium;* ov, *oviduct;* p, *proboscis;* pc, *para-ctenidial folds;* pe, *penis or verge;* pr, *prostate;* re, *rectum;* s, *esophagus;* se, *seminal vesicle;* sp, *spermathecal duct;* st, *stomach;* t, *tentacle;* te, *testis;* ut, *uterus, pallial oviduct or mass membrane gland.*

Fig. 13 — Irrigation ditches with growths of water-cress, near Campo Grande, Mato Grosso, where Oncomelania brasiliensis *has been found.*

Adult shells small; on field collected specimens they measured from 4 to 7 millimeters long (average 5.5 mm) and 2.2 mm wide, with 6 to 7 whorls, well rounded and smooth. Apex truncate in 55% of the specimens. Last whorl longer than the other ones in the spire. Aperture obliquely ovate. Lip simple or slightly thickened and reflected, but always without a varix.

Operculum thin, horny, translucent, paucispiral, with very excentric nucleus (Fig. 5). When the animal is disturbed this is withdrawn into the shell.

Animal — dioecius, males being recognized by the external copulatory organ (penis) which is attached to the dorsal side of the neck, on the midline, and held in a coiled position, hidden by the mantle (Figs. 1, 2, 3 and 8).

General color dark grey, almost black, but sometimes lighter. Two slender tentacles with a color-streak or "eyebrow" made of bright yellow, closely packed, coarse granules imbedded in the skin just above the eyes.

The small black eyes are buried at the swollen base of the tentacles on the external side.

Head small, prolonged by a distensible and almost cylindrical snout or proboscis, blunt and slightly bilobed in front, where the mouth is situated.

The foot is simple, longer than broad, truncate in front, where the fine mucus slit is located, and rounded behind.

Mantle edge smooth.

Internal anatomy — the mantle cavity contains the gills with 45-50 plate-like flesh folds which extend from a short distance above the mantle collar to the renal pore located at the posterior end of the mantle cavity. Gills composed of closely assembled lamellae starting at the left side of the mantle wall and changing after a short distance into low filaments (or para-ctenidial folds) that extend to the rectum (Figs. 4 and 8).

Paralleling the left anterior third of the gills is the osphradium.

The digestive system is represented in fig. 9.

Radula (Figs. 6 and 7) — There are about 80 rows of teeth with 5 elements each. The general shape of the teeth is as in figures of BARTSCH [5] for *S. slatery* (= *O. nosophora*). The central tooth has denticle formula: $\frac{3-1-3}{2-2}$, but with great variations so as: $\frac{2-1-2}{2-2}$, $\frac{2-1-2}{3-3}$, $\frac{3-1-3}{3-3}$, and some assymetrical combinations. Lateral tooth has mostly $2-1-3$ or $3-1-3$ or $2-1-4$ denticles; first marginal, 9; and second marginal about 10.

Male reproductive system (Fig. 10) — the verge is a simple, large and fleshy prong with a cylindrical extremity and the base rather flattened. As it keeps a curved position we can see two or three serrations on the inner, concave edge (Figs. 1, 2 and 3).

Inside the penis is the vas deferens running from the tip of the organ and always near the convex edge. After leaving the base of the verge it continues posteriorly in an almost parallel course with the esophagus and reaches the prostate gland which is kidney-shaped and adjacent to the right side of the rectum. The posterior part of the vas deferens is enlarged and convoluted (seminal vesicle), and communicates with a number of short and transparent ducts coming from the racemose testis. Digitiform and irregular diverticula, brown in color, constitute the male gonadial gland which extends through the last two whorls of the body, merged in the bulk of the digestive gland or "liver".

Female reproductive system — the ovary is light yellow and also lies embedded in the collumelar side of the "liver". It has only a few short branches (Fig. 11).

The oviduct becomes convoluted when it reaches the level of the kidney. Then it divides into two branches: one for the bursa (or spermatheca) and the other for the pallial oviduct (also called accessory gland, mass membrane gland, or uterus) (Fig. 12).

The bursa is a flattened, oval-elongated sac. From its posterior pole comes another duct — the spermathecal duct — which runs adnate to the palial oviduct, the two fusing together near the anal end, a short distance from the mantle collar.

The pallial oviduct is a large, elongated mass which extends from the anterior region of the stomach (paralleling the rectum) down to the right side of the anus. There is a common opening for this organ and the spermathecal duct.

Type locality — Campo Grande (State of Mato Grosso), Brazil.

Locality records — Aquidauana and Corumbá, in the same State of Mato Grosso.

Type and topotypes — deposited in the collection of the Dep. of Zoology (Secretaria da Agricultura) under number 14,598; topotypes in the Dep. of Parasitology (Fac. Med. Univ. São Paulo).

DISCUSSION

As already published in a previous report (REY & col.[14]), the stools of about 2,000 residents in Campo Grande, Aquidauana, Terenos, Miranda and Corumbá counties. were examined and not a single infection by *Schistosoma japonicum* was found. A few cases of schistosomiasis mansonica were detected among patients coming from known endemic areas of other Brazilian States.

A previous survey performed by PELLON & TEIXEIRA [12], in 1953, among school children of the same region, yielded similar results.

By questioning physicians who, for a long time, have been engaged in clinical or laboratory practice in the area, we also failed to get any information which might indicate the possible occurrence of *Schistosoma japonicum*.

Nevertheless, one infection by this trematode had been reported by BANDEIRA & PIRES [3], in a Brazilian boy less than six years old, born and resident in Campo Grande. The diagnosis was made by fecal examination and the finding of the trematode's eggs. Because at the time (1940) no possible vector of the disease was known to exist in the region, and also due to insufficient documentation, the report met with general skepticism.

Having no further information about the above mentioned case, we are, anyway, much concerned over the possibility that the disease might find its way into this country, should the *Hydrobiidae* snails be potential hosts of the trematode, since asiatic immigration from endemic areas to Brazil still continues. Japanese immigrants already numbered 140,693 in 1940, according to official data [10], and this figure has been steadily increasing over the years. Immigrants from China and Korea have also been recently admitted.

Anatomically *O. brasiliensis* is quite similar to the oriental species of *Oncomelania*, as described and figured by different authors (ABBOTT [1, 2], BARTSCH [4, 5], HSU [9], ITAGAKI [11]). The main morphological difference lies in the absence of a varix just behind the edge of the outer lip of the shell aperture.

This character does not seem a very reliable one for generic determination because, although *O. nosophora*, *O. hupensis* and *O. formosana* show a strong varix, the same thickening is "only slightly developed" in *O. quadrasi* (ABBOTT [1]); in *O. nosophora* it may be either greatly or slightly thickened, and in *O. hupensis* only adults develop a strong varix [2]. On the other hand, in *Blanfordia*, "the varix on the outside of the lip is very similar to that found in *Oncomelania*" [2].

Our *O. brasiliensis* can be readily distinguished from *Pomatiopsis* [6, 8] by the radula, by the shape and number of gill filaments and by the almost exclusive aquatic habits of the Brazilian species.

REY, L. — Molluscs of the genus *Oncomelania*, in Brazil, and their possible epidemiological significance. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:144-149, 1959.

RESUMO

Moluscos do gênero Oncomelania, *no Brasil, e sua possível importância epidemiológica*

Moluscos da família *Hydrobiidae* (= *Amnicolidae*), morfològicamente muito semelhantes aos do gênero *Oncomelania*, transmissores da esquistossomose japônica na Ásia Oriental, foram descobertos pelo Autor no Estado de Mato Grosso, Brasil, e considerados como nova espécie: *Oncomelania brasiliensis*. Uma primeira descrição da concha e do animal é dada neste trabalho.

Êles são encontrados em pequenos cursos d'água com muita vegetação, em valas de irrigação e em plantações de agrião (*Nasturtium officinale*). Permanecem quase sempre submersos, encontrando-se poucos sôbre as margens úmidas.

A concha, semelhante à de *Oncomelania nosophora*, mede em tôrno de 5,5 milímetros de altura por 2,2 de largura, com 6 a 7 giros, sem esculturas axiais e sem espessamento varicoso do lábio, no que se distingue das espécies do Oriente.

O animal mostra semelhanças mais acusadas, trazendo as "falsas sobrancelhas", constituídas de manchas amarelas grosseiras sôbre os olhos, tegumento escuro, opérculo e rádula como em *Oncomelania*. Filamentos branquiais em número de 45 a 50.

Apresentam grande resistência à dissecação e se criam fàcilmente no laboratório.

Ainda que nenhum caso de esquistossomose japônica tenha sido encontrado pelo Autor, no inquérito coprológico efetuado na região, deve-se ressaltar a importância de estudos mais aprofundados, em virtude de ocuparem os moluscos extensas áreas de colonização japonêsa.

REFERÊNCIAS

1 — ABBOTT, R. T. — The Philippine intermediate snail host (*Schistosomophora quadrasi*) of schistosomiasis. Occ. Pap. Mollusks, Mus. Comp. Zool. Harvard Univ., nº 2:516, 1945.

2 — ABBOTT, R. T. — Handbook of medically important molluscs of the Orient and Western Pacific. Bull. Mus. Comp. Zool. **100**:245-328, 1948.

3 — BANDEIRA, J. A. T. & PIRES, A. C. — O primeiro (?) caso de doença de Katayama no Brasil. Resenha Med., Rio **7**:6-7, 1940.

4 — BARTSCH, P. — Molluscan intermediate hosts of the Asiatic blood fluke *Schistosoma japonicum*, and species confused with them. Smithsonian Mis. Coll. **95**(5):1-60, 1936.

5 — BARTSCH, P. — Schistosomophora in China, with descriptions of two new species and a note on their Philippine relative. Smithsonian Mis. Coll. **104**(20):1-7, 1946.

6 — BERRY, E. G. — The Amnicolidae of Michigan: distribution, ecology and taxonomy. Misc. Publ. Mus. Zool., Univ. Michigan, nº 57, 70 p., 1943.

7 — BERRY, E. G. & RUE, R. E. — *Pomatiopsis lapidaria* (Say), an American intermediate host for *Schistosoma japonicum*. J. Parasitology **34**(sec. 2):15, 1948.

8 — DUNDEE, D. S. — Aspects of the biology of *Pomatiopsia lapidaria* (Say) (Mollusca: Gastropoda: Prosobranchia). Misc. Publ. Mus. Zool., Univ. Michigan, nº 100, 37 p., 1948.

9 — HSU, P. K. — A preliminary study on the morphology and bionomics of *Oncomelania* snails in Kwangtung province Chinese Med. J. **73**:477-492, 1955.

10 — INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA — Anuário Estatístico do Brasil 1949, ano 10, 1950.

11 — ITAGAKI, H. — Anatomy of *Oncomelania nosophora* (Robson) (Gastropoda). The Venus, Jap. J. Malacol. **18**:161-168.

12 — PELLON, A. B. & TEIXEIRA, I. — Inquérito helmintológico escolar em cinco Estados das Regiões Leste, Sul e Centro Oeste. Curitiba, Divisão de Organização Sanitária, 1953 [Trabalho apresentado no XI Congr. Brasil. de Higiene].

13 — REY, L. & col. — Nota sôbre o encontro de moluscos do gênero *Oncomelania* em Mato Grosso; primeiro registro de sua ocorrência no Brasil. Rev. paulista Med., **52**: 464, 1958.

14 — REY, L. & col. — Resultados do inquérito helmintológico realizado em populações do Estado de Mato Grosso pela I Bandeira Científica da Faculdade de Medicina da U.S.P. Rev. paulista Med. **53**:247, 1958.

Recebido para publicação em 30 de julho de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):150-164, julho-agôsto 1959

ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DAS MICOSES PROFUNDAS NA AMÉRICA DO SUL [1]

Carlos da Silva LACAZ

RESUMO

As micoses profundas ocorrem com relativa freqüência na América do Sul. Apenas a mucormicose e as micoses por cogumelos dos gêneros *Cercospora* e *Basidiobolus* ainda não foram aqui assinaladas. Em contraposição, duas micoses são peculiares ao território sul-americano: a blastomicose sul-americana e a blastomicose queloideana ou "blastomicose tipo Jorge Lôbo". Esta última é considerada como entidade clínica diferente da blastomicose sul-americana e provocada por nova espécie de *Paracoccidioides* — o *P. Loboi*. A blastomicose queloideana foi assinalada entre seringueiros da Amazônia e índios do Brasil Central. A conceituação desta nova blastomicose é baseada em dados anátomo-clínicos, histopatológicos, micológicos e imunológicos.

Quanto à blastomicose norte-americana, acha o autor que a maioria dos casos descritos refere-se, na realidade, à blastomicose sul-americana. A criptococose ocorre também no continente sul-americano, sem apresentar nada de importante quanto a suas características. Em relação à cromomicose, ela é relativamente freqüente, principalmente no Brasil. Destaca-se, na parte do tratamento da cromomicose, o ensaio efetuado por BOPP [10], com excelentes resultados, associando a vitamina D_2 à medicação iódica.

A histoplasmose tem sido muito estudada nesses últimos anos em diversos países da América do Sul, principalmente depois de inquéritos com a histoplasmina que revelaram incidência relativamente elevada de reagentes positivos àquele antígeno. Do solo e de animais silvestres e domésticos, o *Histoplasma capsulatum* já foi isolado, tal como tem ocorrido em outras partes do mundo. Quanto à coccidioidomicose, tal infecção ainda não foi assinalada no Brasil, não constituindo também para outros países sul-americanos problema epidemiológico de importância, pois apenas um número limitado de casos foi registrado na Venezuela e na Argentina, por exemplo.

A rinosporidiose foi estudada no Brasil, sendo a maioria dos casos de localização nasal.

No que diz respeito à esporotricose, ela é bastante freqüente, principalmente no Brasil, onde cêrca de 0,5% das dermatoses é de etiologia esporotricótica. Formas clínicas as mais diversas são de observação freqüente nos ambulatórios de dermatologia. A contribuição dos pesquisadores brasileiros no que diz respeito ao valor da prova da esporotriquina no diagnóstico da esporotricose é grande,

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Inst. Med. Trop. — Dep. de Microbiol. e Imunol. (Diretor: Prof. C. S. Lacaz).

(1) Relatório apresentado aos Sextos Congressos Internacionais de Medicina Tropical e de Paludismo, realizados em Lisboa de 5 a 13 de setembro de 1958.

ressaltando-se sua extrema sensibilidade (esporotriquina, preparada com a variante em naveta, do *Sporotrichum schencki*).

A actinomicose ocorre com mais freqüência que a maduromicose, sendo em muitos casos determinada pelo *Actinomyces brasiliensis*, fungo identificado pela primeira vez no Brasil por LINDENBERG, em 1909. Quanto à maduromicose, cogumelos identificados como *Monosporium apiospermum*, *Cephalosporium falciforme* e *Madurella grisea*, são os mais freqüentemente isolados de tais processos.

INTRODUÇÃO

As micoses profundas ocorrem com relativa freqüência na América do Sul. Apenas as micoses por cogumelos dos gêneros *Basidiobolus* e *Cercospora* ainda não foram assinaladas nesta parte do continente americano. Recentemente [55], com a colaboração de MONTENEGRO, BRITO & LOMBARDI, registramos os dois primeiros casos de mucormicose, em São Paulo, sob a forma de lesões intestinais. Em contraposição, duas micoses são comuns ao território sul-americano: a blastomicose sul-americana e a blastomicose queloideana ou "blastomicose tipo Jorge Lôbo". Esta última infecção micótica foi particularmente descrita nos seringueiros da Amazônia, bem como entre indígenas do Brasil Central, sendo, no entanto, de distribuição muito limitada.

BLASTOMICOSE SUL-AMERICANA

Das micoses profundas que ocorrem na América do Sul, devemos destacar pela sua importância médico-social a blastomicose sul-americana ou "doença de Lutz-Splendore-Almeida". Esta infecção, de decurso geralmente grave, provocada pelo *Paracoccidioides brasiliensis*, já foi assinalada em quase todos os países da América do Sul. Os únicos dois casos registrados fora do continente sul-americano — um nos Estados Unidos (PERRY & col.[73]) e o outro na Itália (MOLESE & col.[54]) referem-se a pacientes procedentes da Venezuela, onde a doença existe endêmicamente. Tal infecção ocorre também na América Central, pois em Costa Rica TREJOS & ROMERO [90] assinalaram 3 casos.

Em 1955-1956 fizemos sôbre a blastomicose sul-americana estudo de conjunto, analisando os principais dados referentes à sua história, distribuição geográfica, aspectos micológicos, fontes de infecção, formas anátomo-clínicas, diagnóstico diferencial, diagnóstico de laboratório, anatomia patológica, tratamento e contrôle de cura.

Até junho dêste ano haviam sido fichados na Secção de Micologia da Faculdade de Medicina 1.724 casos de blastomicose sul-americana, a maioria atingindo trabalhadores rurais, entre as idades de 30 e 50 anos.

Dos países da América do Sul, apenas no Chile ainda não se registraram casos desta micose, segundo POZO AGUIRRE [76]. Êste pesquisador refere, também, que um inquérito realizado no Chile, em 1952, por Honorato & Cruz Plaza, com paracoccidioidina, em 137 escolares do Vale de Coliguay (Província de Valparaíso), resultou absolutamente negativo. Fato digno de menção é a freqüência com que os imigrantes japonêses, no Brasil, são vítimas da blastomicose. Dedicando-se à lavoura, pagam maior tributo à referida infecção que, muitas vêzes, em tais pacientes, se manifesta com quadros clínicos bastante graves. Em 1957, na Argentina, NEGRONI [57] assinalava 30 casos de blastomicose, sendo que a zona mais intensamente infectada é a do Chaco. Para NEGRONI & col.[59], a blastomicose sul-americana apresenta longo período de incubação e os casos aparentemente autóctones de outras zonas do país, adquiriram a infecção em regiões onde a referida micose é endêmica.

FLOCH [24] registrou, também, no extremo norte do continente, na Guiana Francesa, um caso desta infecção. Em 1956, RUBIO [79], no Peru, descrevia de 1937 a 1955, 18 casos de blastomicose sul-americana.

A experiência dos pesquisadores brasileiros com a blastomicose sul-americana é grande, tendo sido a referida infecção observada

pela primeira vez em São Paulo, em 1908, por Adolfo Lutz. Ressaltem-se as valiosas contribuições de SPLENDORE [88] e principalmente de ALMEIDA [2] no estudo desta infecção, endêmica no Brasil e de indiscutível importância médica e social.

Durante muito tempo o agente da blastomicose sul-americana foi confundido com o *Coccidioides immitis*, tendo ALMEIDA [2] mostrado, em numerosos trabalhos, as diferenças entre êsses dois parasitas, à custa de elementos de diferenciação bastante típicos, tais sejam as suas dimensões, modo de reprodução nos tecidos, culturas e inoculações.

Paracoccidioides brasiliensis (Splendore) Almeida, 1930 é o agente etiológico da blastomicose sul-americana. Tudo faz crer que seu habitat seja o reino vegetal e a terra. No entanto, nenhuma pesquisa sistemática foi ainda efetuada, no sentido de se tentar isolar o referido parasita do meio ambiente, bem como de animais que poderiam eventualmente funcionar como reservatórios do referido fungo em a natureza. "In vitro", conseguimos o cultivo do *Paracoccidioides brasiliensis* em diversos substratos vegetais, tendo também MEDINA & BODZIAK Jr.[51] referido o cultivo dêste fungo em 49 amostras de terra de várias zonas do Estado do Paraná (Brasil). Verificaram, igualmente, que o *Paracoccidioides brasiliensis* cresce melhor quando o pH está entre 6,0 e 7,8. O crescimento é nulo em terras de pH muito ácido. Em palha de milho, PEREIRA FILHO [71] também conseguiu obter culturas de *Paracoccidioides brasiliensis*.

Paracoccidioides brasiliensis possui características morfológicas bastante típicas para a sua fácil identificação nos tecidos infectados; no entanto, em certos casos, sua morfologia pode confundir-se com o *Blastomyces dermatitidis* e mais raramente com o *Histoplasma capsulatum*. Suas culturas, conforme a temperatura de incubação, a composição do meio e o pH, podem ser obtidas em duas variantes — cotonosa e cerebriforme. O cobaio inoculado por via testicular constitui o animal de escolha para o estudo experimental da infecção blastomicótica.

A observação clínica de numerosos casos de blastomicose sul-americana revela sua maior freqüência nos trabalhadores rurais, onde a infecção geralmente se manifesta por lesões de estomatite grave (estomatite ulcerosa moriforme), com adenopatia satélite, acompanhadas ou não de lesões cutâneas e comprometimento pulmonar.

Desejamos ressaltar a freqüência com que ocorrem as lesões orofaringeanas na blastomicose sul-americana. Quase sempre tais processos são primários, isto é, lesões iniciais, o doente veiculando o fungo para a bôca através de fragmentos vegetais os mais diversos. Geralmente, os pacientes de blastomicose apresentam os dentes em mau estado de conservação, facilitando a proliferação do fungo.

FONSECA [25] estudou as lesões dentárias e paradentárias na blastomicose sul-americana, mostrando a freqüência da localização periodontal nas referidas lesões, com mobilidade franca dos dentes, ao lado de completa destruição do processo alveolar. Na base dêsses achados, que são realmente freqüentes, preconiza FONSECA [25] a remoção de tais focos, como medida terapêutica auxiliar, administrando-se a medicação sulfamídica como cuidado pré e pós-operatório.

As lesões orofaringeanas na blastomicose sul-americana foram bem estudadas por NOVA [66], devendo-se registrar, igualmente, a localização laringeana do fungo, determinando lesões da corda vocal que simulam clìnicamente a tuberculose e até mesmo processos neoplásicos. O comprometimento pulmonar, primitivo ou secundário a lesões mucosas, é de ocorrência freqüente na blastomicose. Do ponto de vista radiológico, as lesões pulmonares, na blastomicose sul-americana, apresentam quadros radiológicos diversos, podendo simular a tuberculose e em certos casos os dois processos se associam, o que dificulta o diagnóstico diferencial. Na vigência do comprometimento pulmonar, com lesões extensas, o tratamento sulfamídico conduz à cura clínica, com limpeza do quadro radiológico, restando, porém, intensa fibrose que pode conduzir os doentes a um quadro de "cor pulmonale" crônico. Para se evitar êste quadro, alguns autores têm preconizado o emprêgo concomitante de hormônios corticóides à medicação sulfamídica.

Na blastomicose sul-americana não existem descritos casos de calcificações pulmonares filiados de modo específico ao processo micótico, tal como ocorre em casos de

histoplasmose. O problema da "blastomicose-infecção" está ainda em fase preliminar de investigação. Nossa opinião pessoal é a de que a capacidade de sensibilização do *P. brasiliensis* é muito pequena e as reações positivas que se obtêm com a paracoccidioidina, em sua maioria, correm por conta de "reações cruzadas" com a histoplasmina, tal como se verifica com a blastomicetina, nos Estados Unidos. Todavia, o problema merece ser investigado, principalmente depois que AMADEU FIALHO [23] demonstrou anátomo-patològicamente a ocorrência de lesões pulmonares regressivas, como fenômeno espontâneo, em paciente que não tomara medicação sulfamídica. Assim, observou-se neste caso a formação de nódulos fibrosos, com organização conjuntivo-histiocitária e início de calcificação.

É provável, na opinião de LACAZ [34, 35] e de MACKINNON & col.[47], que existam formas subclínicas ou benignas de blastomicose, mas como são freqüentes as reações cruzadas da paracoccidioidina em casos de histoplasmose-infecção, muito critério precisa ser tomado quando se interpreta uma prova positiva à paracoccidioidina. Devemos registrar que a sensibilidade dêsse antígeno em casos comprovados de blastomicose é relativamente pequena.

NEGRONI & col.[57], em 2.213 reações praticadas em crianças de escolas rurais do Sul de Tucumán e Santiago del Estero (Argentina), encontraram vários reagentes positivos, sendo que a incidência mais elevada — 4,68% — foi obtida em "Los Bulbacio" (Tucumán).

As lesões cutâneas na blastomicose sul-americana, quase sempre secundárias a um processo de localização mucosa, podem apresentar quadros dermatológicos os mais diversos. Pràticamente tôdas as lesões elementares da pele são encontradas em casos de blastomicose tegumentar. Êste problema foi analisado principalmente por CUNHA MOTTA & AGUIAR PUPO [56], a quem se deve a sistematização dos estudos anátomo-clínicos das lesões cutâneas na blastomicose sul-americana. Formas generalizadas são explicadas pela disseminação hematogênica do fungo, tendo sido o parasita isolado, repetidas vêzes, por hemocultura, de tais casos.

O comprometimento ganglionar é igualmente bastante freqüente e quando tal processo atinge os gânglios abdominais, devido à compressão de alças intestinais ou dos ductos extra-hepáticos, sintomatologia semelhante à de quadro tumoral pode ser eventualmente observada.

Formas viscerais, localizações ósteo-articulares, lesões do sistema nervoso central e de glândulas endócrinas têm sido igualmente referidas.

A blastomicose sul-americana é bastante sensível à medicação sulfamídica. Tanto "in vitro" como "in vivo" diversos preparados sulfamídicos exercem manifesta ação sôbre o *Paracoccidioides brasiliensis*. Curas clínicas se obtêm com a referida medicação, devendo os doentes, porém, submeterem-se a tal tratamento durante tempo indeterminado, já que as recidivas são muito freqüentes.

Recentemente vimos empregando, com Sampaio, a Anfotericina B (Fungizone) por via venosa, no tratamento da blastomicose sul-americana, com excelentes resultados, talvez superiores ao da própria medicação sulfamídica. No contrôle de cura desta infecção, ao lado do exame clínico, duas provas devem ser feitas rotineiramente: a reação de fixação do complemento e a hemossedimentação. FAVA NETTO [22] padronizou a reação de fixação do complemento, na blastomicose, utilizando como antígeno um polissacáride obtido de culturas leveduriformes do *Paracoccidioides brasiliensis*. A prática desta reação, em moldes quantitativos, tem oferecido excelentes resultados para se ajuizar do prognóstico da infecção, bem como do seu contrôle de cura.

BLASTOMICOSE QUELOIDEANA

(Blastomicose de Jorge Lôbo)

A blastomicose queloideana ou blastomicose "tipo Jorge Lôbo" constitui, segundo nosso modo de ver, dermatose autônoma, com características clínicas, anátomo-patológicas e micológicas próprias, e determinada por nova espécie de *Paracoccidioides* — o *Paracoccidioides Loboi*.

Vários elementos justificam colocar o agente da blastomicose queloideana em espécie distinta do *Paracoccidioides brasiliensis*. Descrita em 1931 pelo Prof. Jorge Lôbo, do Recife, e considerada inicialmente por

muitos pesquisadores como forma anátomo-clínica da blastomicose sul-americana, tal afecção é tida hoje em dia como entidade independente, determinada pelo *Paracoccidioides Loboi* Almeida & Lacaz, 1948-1949. Reina ainda certa confusão no que diz respeito à exata denominação genérica do agente da blastomicose queloideana. Sem entrar no mérito dessa questão, devemos referir que vários dados falam a favor da individualização desta dermatomicose. Assim, a blastomicose queloideana é primitivamente cutânea, com ausência de comprometimento visceral; as lesões são de longa duração, mantendo-se conservado o estado geral do paciente; êstes procedem, em sua maioria, da bacia amazônica. As lesões podem apresentar localização a mais diversa, predominando o processo nas pernas e regiões auriculares. Do ponto de vista dermatológico, múltiplas lesões podem ocorrer: pápulas, nódulos, lesões verrucosas e tuberosas, bem como estruturas queloideanas, o que lhe valeu a adjetivação dada por Jorge Lôbo. A maioria dos doentes procede da Amazônia, exceto um caso observado em Costa Rica por Trejos & Romero [90]. Os doentes são constituídos, em sua maioria, de seringueiros, havendo dois casos em mulheres. Pereira Filho [72] assinalou em dois índios do Brasil Central (Acuxi e Ciriro-Cruá), internados no Hospital Evandro Chagas (Rio de Janeiro), lesões blastomicóticas cutâneas, caracterizadas pelo aparecimento de nódulos e tubérculos. Lesões atróficas cutâneas também foram verificadas, simulando clìnicamente lepra tuberculóide. Pereira Filho [72] refere que novos estudos talvez levem o fungo da doença dos índios do Alto Xingu (Brasil Central — Estado de Mato Grosso) para nova espécie ou variedade muito próxima do *Paracoccidioides Loboi*. Nossa impressão é a de que tal dermatose se enquadra dentro da blastomicose queloideana. Todavia, parece-nos que maior riqueza de parasitas se observa neste último tipo de blastomicose. Os métodos de Gridley e Gomori são excelentes para a demonstração dêsses fungos. Nery Guimarães & Macedo [30] registram que a "blastomicose queloideana" é própria de zonas de matas, com calor e umidade relativa elevados; ataca, de preferência, trabalhadores em florestas e agricultores, como é o caso dos seringueiros da Amazônia; daí a sua ocorrência predominante no sexo masculino.

Até o presente momento são conhecidos 21 casos de blastomicose queloideana, sendo 2 em índios do Brasil Central. Uma observação, do Dr. Gilberto de Azevedo Teixeira, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, foi registrada no trabalho de Pereira Filho [72].

O exame anátomo-patológico das lesões queloideanas revela grande riqueza de parasitas, histiocitose intensa, sem a formação de granulomas individualizados, retículo-endoteliose do derme, sem proliferação das células de Langhans, nunca se observando a reprodução do cogumelo por cripto-esporulação, comumente assinalada em material de granuloma paracoccidióidico. Monteiro Leite [41] registra, com razão, que o quadro histopatológico da doença de Lôbo é bastante típico para permitir sua distinção de qualquer outra lesão blastomicótica. Em exame a fresco, *Paracoccidioides Loboi* se apresenta como parasitas arredondados, isolados ou em grupos, com dupla membrana nítida, bem refringente. A membrana é mais espêssa que a do *Paracoccidioides brasiliensis* e a riqueza dos elementos parasitários nas lesões é impressionante.

As culturas do *Paracoccidioides Loboi* são dificilmente obtidas, tal fato decorrendo de uma exigência biológica do microrganismo ou, então, porque a maioria se encontra destruída, dada a intensa fagocitose observada nas lâminas. Ciferri & col.[19] estabeleceram diferenças microscópicas entre *P. brasiliensis* e *P. Loboi*, levando em consideração a morfologia das células-mãe (esporângios), bem como das gêmulas e criptósporos. Na base dêsses elementos, criaram Ciferri & col.[19] o gênero *Loboa* para nêle enquadrar o agente da blastomicose queloideana.

As inoculações em testículo de cobaio, a partir do material retirado das lesões, não oferecem a possibilidade de obter processos experimentais, com facilidade. Com o material retirado de dois índios do Brasil Central, Pereira Filho [72], em hamsters, conseguiu obter orquite, pouco acentuada, sem haver visceralização do processo infectante.

Lemos Monteiro, com material de um caso por nós [38] observado, reproduziu interessantes lesões em ovos embrionados, parecendo àquele pesquisador serem diferentes

das determinadas pelo *P. brasiliensis*. Se não bastassem essas características já assinaladas para diferençar a blastomicose sul-americana da blastomicose queloideana, devemos registrar, como dado complementar, que a reação de fixação do complemento com o polissacáride do *P. brasiliensis* foi negativa em um caso de blastomicose queloideana que observamos [38] em 1955, em colaboração com Sterman, Lemos Monteiro & Outeiro Pinto.

BLASTOMICOSE NORTE-AMERICANA

Os casos registrados no Brasil e na Argentina como de blastomicose norte-americana são, ao que tudo faz crer, novas observações de blastomicose sul-americana. Realmente, em tais casos o diagnóstico de moléstia de Gilchrist foi feito na base de dados anátomo-patológicos, pois considerava-se o *Paracoccidioides brasiliensis* como incapaz de produzir brotamento único, forma de reprodução muito característica do *Blastomyces dermatitidis*. Na monografia publicada por Niño [62], em 1938, são referidos alguns casos, na Argentina, de blastomicose norte-americana; todavia, pelo quadro clínico e histopatológico, chega-se à conclusão de que tais observações são, na realidade, de blastomicose sul-americana. O *Paracoccidioides brasiliensis* pode, nos tecidos, reproduzir-se por cripto-esporulação, bem como por brotamento simples, confundindo-se em tais casos com o *Blastomyces dermatitidis*.

Do ponto de vista prático, a blastomicose norte-americana não ocorre no continente sul-americano. Polo & col. (citados por Campins [12]) referem-se a um caso desta natureza, observado na Venezuela, com lesões mucosas e ganglionares. Formas do parasita, em brotamento, foram encontradas e obtidas as culturas. O diagnóstico exato se estabeleceu graças aos estudos efetuados por Mackinnon, no Uruguai.

CRIPTOCOCOSE

Em diversos países da América do Sul, a granulomatose criptocócica tem sido observada com sintomatologia clínica que se enquadra dentro das formas já conhecidas dessa infecção. No Brasil foram assinalados cêrca de 20 casos de criptococose, tendo Reis & Bei [77], em 1956, estudado de maneira completa seu quadro liquórico, concluindo que as alterações encontradas assemelham-se às assinaladas em casos de meningite tuberculosa. Casos esporádicos de criptococose foram descritos na Venezuela, Argentina, Equador e Chile.

Desejamos, neste particular, registrar o trabalho monográfico de Niño [61], publicado em 1934, no qual êste micologista argentino estuda do ponto de vista clínico, micológico, anátomo-patológico e experimental um caso generalizado de criptococose ocorrido na Argentina. Nada de particular apresenta a criptococose na América do Sul, que mereça registro especial.

CROMOMICOSE

A cromomicose ou cromoblastomicose ocorre com relativa freqüência na América do Sul, principalmente no Brasil. Aliás, os quatro casos descritos pela primeira vez, de cromomicose, o foram em São Paulo, por Pedroso & Gomes [69], em 1920. Segundo os dados colhidos por Barbosa da Silva [82], até 1955 haviam sido registrados no Brasil 168 casos de cromomicose. Assinale-se o número relativamente grande de teses e trabalhos monográficos publicados sôbre o assunto, no Brasil. Assim, Mello Cavalcanti [18], Pereira [70], Tibiriçá [89], *Azulay* [7], Aleixo [1], Guimarães [31] e Barbosa da Silva [82] estudaram o referido problema sob os aspectos dermatológico ou anátomo-patológico, já que a confusão no domínio micológico ainda persiste. Neves da Silva [36], em 145 casos de micoses, verificou a ocorrência de 9 observações de cromomicose, com incidência de 6,2%. Na Venezuela a cromomicose é relativamente freqüente, tendo Campins & Scharyj [13] assinalado 34 casos.

O quadro clínico da cromomicose é bastante típico para a sua individualização, podendo ocorrer, porém, formas atípicas, simulando "tuberculosis cutis verrucosa". Tibiriçá [89] considerou três formas anátomo-clínicas, a saber:

1) Verrucosa nodosa, constituída por verrugas isoladas,
2) verrucosa confluente,
3) verrucosa ulcerosa ou úlcero-verrucosa.

Outras modalidades clínicas têm sido observadas e descritas, tais como a sarcoídica, a tuberculóide, a sifilóide, a psoriasiforme, a cicatricial ou elefantiásica e a eczematóide. Ao lado de lesões estritamente cutâneas, devemos referir a localização mucosa, já registrada em nosso meio por HILTON ROCHA [78], que descreveu um caso com processo inflamatório conjuntival. Lesões de linfangite, simulando esporotricose, também já têm sido registradas.

Como valiosa contribuição para o estudo da cromomicose deve ser mencionado o trabalho de ARÊA LEÃO & col.[40], sôbre a reprodução experimental da referida micose em camundongos, hamsters e rãs, inoculados por diversas vias. Subsídio também de valor ao estudo da cromomicose foi o trabalho de BOPP [10], referindo em 20 casos o emprêgo do iodeto de sódio a 10% associado à vitamina D_2; esta última, administrada por via oral, em solução alcoólica — 600.000 unidades, pela manhã e em jejum, semanalmente, num total de 15 a 25 doses — determina, segundo BOPP [10], proliferação conjuntival, com acentuação da reação histiocitária e atenuação do processo supurativo, conduzindo a resultados clínicos altamente favoráveis.

FARINA [21] ensaiou em alguns casos, como tratamento da cromomicose, a remoção ampla das lesões, tendo como limite o plano aponeurótico, reparando a extensa perda de substância com enxêrto livre de pele.

HISTOPLASMOSE

O número de casos de histoplasmose, na América do Sul, tem aumentado à medida que se intensificam os trabalhos no sentido de sua caracterização. No Brasil, a maioria dos casos de histoplasmose foi assinalada na mesa de autópsia; assim, de 10 casos já registrados, no Brasil, de histoplasmose-doença, sòmente em dois o diagnóstico foi estabelecido em vida. Previa-se no Brasil, como em outros países do continente sul-americano, a ocorrência da histoplasmose-doença, tendo-se em vista a incidência relativamente elevada de indivíduos reagentes positivos à histoplasmina. Uma das últimas estatísticas por nós registradas, baseadas em inquérito realizado na Cidade de São Paulo em 500 indivíduos, assinala positividade de 19% de reagentes positivos àquele antígeno.

Devemos referir que MADUREIRA PARÁ [68], em 1946, descrevendo as lesões hepáticas em 5 casos de histoplasmose, encontrou em um cão que tivera contato com um dos casos, a presença de *Histoplasma capsulatum*. Ainda no Brasil deve ser registrada a ocorrência de *Histoplasma capsulatum* no solo (Estado da Bahia), bem como em *Rattus norvegicus*, verificação esta efetuada por M. E. DA SILVA [84]. Do solo da Guiana Francesa, FLOCH [24] isolou, igualmente, amostras típicas de *Histoplasma capsulatum*.

Na Venezuela, CAMPINS & col.[15] assinalaram histoplasmose em um grupo de excursionistas que visitou uma gruta, no Estado de Lara. Formas graves e benignas da infecção foram registradas. Do solo da referida gruta foi isolado o agente infectante, presumindo-se que o mesmo encontre condições favoráveis de proliferação em lugares ricos em matéria orgânica e úmidos.

Assinale-se que na Argentina numerosos casos de histoplasmose têm início com lesões orofaringeanas, simulando clìnicamente a blastomicose sul-americana.

Valiosa contribuição para o estudo da histoplasmose no continente sul-americano é a de CANCELA FREIJÓ [16], no Uruguai.

Na Venezuela, um inquérito realizado por CAMPINS & col.[14], em 1949, em 1.836 escolares de Barquisimeto, revelava 13,7% de reagentes positivos, dos quais 44 tinham lesões pulmonares residuais, predominantemente calcificadas e atribuídas ao *Histoplasma capsulatum*. CAMPINS [17] refere 16 casos de histoplasmose bem comprovados na Venezuela, dos quais 14 com localização pulmonar.

Na Argentina, NEGRONI [57] faz referências a 25 casos, com lesões ulcerosas da mucosa bucal, faríngea, laríngea ou nasal, acompanhadas de adenopatia satélite. Muitos dêsses casos foram curados com a medicação sulfamídica. NIÑO [64] assinala 28 observações na Argentina.

No Chile, POZO AGUIRRE [76], em 6.417 reações de histoplasmina, refere apenas 32 positivas (0,5%), tendo sido publicado apenas um caso de histoplasmose-doença, por OLIVARES & col.[67]. Alguns dados sôbre a inci-

dência de reações à histoplasmina estão contidos no quadro I.

QUADRO I

Incidência de reações positivas à histoplasmina, segundo diversos Autores

País	*Autores*	*Incidência da positividade*
Brasil	LACAZ & col.[36]	19,0%
Brasil	ALVIMAR DE CARVALHO [37]	16,4%
Chile	POZO AGUIRRE [76]	0,5%
Uruguai	CANCELA FREIJÓ [16]	8,9%
Paraguai ...	GINÉS & col.[27]	18 a 31%
Venezuela ..	CAMPINS & SCHARYJ [13]	13,7%

Com referência aos aspectos do *Histoplasma capsulatum* nos tecidos, devemos referir que em um dos casos que publicamos com ALMEIDA [5], associado à cromomicose, verificamos a ocorrência de formas parasitárias grandes, muito semelhantes às do *Histoplasma capsulatum duboisii*, agente da chamada "histoplasmose africana".

COCCIDIOIDOMICOSE

Durante muitos anos, no Brasil, a blastomicose sul-americana foi confundida com a coccidioidomicose. Graças aos trabalhos de SPLENDORE [88] e principalmente de ALMEIDA [2], diferenças marcantes foram estabelecidas entre os fungos dos dois processos, individualizando-se, então, a blastomicose sul-americana como entidade bastante diferente da granulomatose coccidióidica. O quadro II resume tais diferenças.

No Brasil, até o presente momento, nenhum caso de coccidioidomicose foi comprovado, o mesmo ocorrendo em outros países sul-americanos, como o Chile, por exemplo. É provável que as condições ambientes — clima e solo dêsses países — dificultem o desenvolvimento do fungo em sua vida saprofítica. Aliás, devemos registrar que alguns inquéritos efetuados no Brasil, com a coccidioidina, resultaram negativos. Recentemente, em 500 doentes internados no Hospital das Clínicas de São Paulo e procedentes de diversos pontos do Brasil, praticamos um inquérito, com a coccidioidina, resultando o mesmo negativo.

Fato interessante é que em outros países do continente sul-americano a doença ocorre endêmicamente. Aliás, a coccidioidomi-

QUADRO II

Diferenças morfológicas e biológicas entre *Coccidioides immitis* e *Paracoccidioides brasiliensis*

	Coccidioides immitis	*Paracoccidioides brasiliensis*
Dimensões do parasita	De 3 a 80 micra.	De 1 a 40 micra.
Reprodução nos tecidos	Formação e diferenciação de esporos no interior da célula; ruptura e eliminação dos esporos.	Esporos exógenos (criptoesporulação) ou reprodução por brotamento único.
Culturas	Fàcilmente obtidas nos meios comuns de laboratório. Início no 2º dia. Culturas filamentosas.	Obtidas com dificuldade. Início de desenvolvimento entre o 20-30º dia. Crescimento lento. A 37ºC, culturas leveduriformes. À temperatura ambiente, variante filamentosa ou cotonosa.
Inoculações	Positivas em cobaios inoculados por qualquer via. Generalização das lesões.	Resultados positivos sòmente por via testicular, em cobaios. Não há generalização das lesões.

cose foi pela primeira vez assinalada na Argentina, por Posadas [74], em 1892.

Em 1950, Flavio Niño [63], examinando material preservado, do caso original de Posadas, encontrou microrganismos típicos, característicos do *Coccidioides immitis*.

Segundo Negroni [57] existe, na Argentina, uma zona árida, endêmica, de coccidioidomicose, que se estende desde o paralelo 27,5° a 40°, de latitude sul. A incidência de reagentes positivos à coccidioidina oscila de 18 a 27%. Refere Negroni [57] que a coccidioidomicose, na Argentina, não constitui problema sanitário, na atualidade, pois se conhecem apenas 15 casos desta infecção.

Em 1950, Niño [63] publicou a 12ª observação de coccidioidomicose na Argentina, em doente que apresentava quadro de osteíte do tarso, vindo de zona endêmica de coccidioidomicose.

Mackinnon [43], no Uruguai, registrou caso de granulomatose coccidióidica em doente boliviano, acreditando que a área de coccidioidomicose deva ser mais ampla na América do Sul. Mackinnon [43] registra que o fungo descrito em 1938 por Negroni & Vallafañe-Lastra como *Trichosporon proteolyticum* deve ser considerado como *Coccidioides immitis*. O mesmo se diga em relação ao chamado *Paracoccidioides Mazzai*, segundo observações de Almeida [3].

Na Venezuela, a granulomatose coccidióidica já foi igualmente registrada, com número reduzido de casos. Campins [12] demonstrou a existência de reagentes positivos à coccidioidina, com intensidade variável conforme a região; assim, no Estado de Lara, caracterizado por regiões áridas quentes, com vegetação xerófila, ambiente propício ao desenvolvimento do *Coccidioides immitis*, a incidência percentual de reagentes positivos à coccidioidina foi maior. Em 6.616 indivíduos Campins [11] obteve positividade de 1,1 a 46,4%, conforme as zonas do país onde realizou o inquérito.

No Chile, segundo os dados de Pozo Aguirre [76], a coccidioidomicose não foi ainda descrita. Entre 4.184 indivíduos examinados, de diversas idades e localidades, sòmente 9 reagiram positivamente à coccidioidina (0,2%).

RINOSPORIDIOSE

Na América do Sul a rinosporidiose tem sido assinalada no homem e em eqüinos.

Em 1946, Thiago de Mello [52] estudou, no Brasil, a rinosporidiose e o *Rhinosporidium Seeberi*, oferecendo valiosa contribuição ao estudo dêsse fungo.

No Brasil 17 casos de rinosporidiose já foram registrados, com localização nasal (a maioria) e conjuntival. Nenhum aspecto particular, do ponto de vista clínico ou histopatológico, foi verificado nos casos acima referidos.

Na Venezuela, Argentina e Equador, casos isolados de rinosporidiose também já foram observados. Niño & Freire [65] assinalam a existência de um foco endêmico de rinosporidiose na província do Chaco.

ESPOROTRICOSE

A esporotricose é relativamente comum na América do Sul, principalmente no Brasil. Entre os anos de 1945 e 1953 foram matriculados no Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo 104 casos de esporotricose. Considerando-se que o total de matrículas, nesse ambulatório, naquele período foi de 20.470 pacientes, tem-se uma freqüência, para a esporotricose, de 0,5% em relação às demais dermatoses.

Neves da Silva [87] assinala que um alto grau de umidade e temperatura, entre 16 e 20°C, deva constituir condição que aumente a proliferação dos esporotricados em a natureza e, por conseguinte, possibilita maiores probabilidades de contágio.

Em 1954, Sampaio & col.[81], no Brasil, examinando 235 casos de esporotricose, na base de um critério morfológico e topográfico, classificaram tais lesões em:

1) Forma cutâneo-linfática ou linfática.
2) forma cutânea localizada (dermo-epidérmica),
3) forma cutânea disseminada,
4) formas extracutâneas.

Almeida & col.[6] assinalaram que os ferimentos por espinhos de plantas e palha constituíram, em sua estatística, os agentes que, com maior freqüência, proporcionaram o aparecimento da esporotricose.

Desejamos ressaltar no diagnóstico da esporotricose o grande valor da esporotriquina (formas filamentosa e em naveta), prova intradérmica que se tem mostrado bastante sensível e específica no diagnóstico desta micose, em qualquer uma de suas formas anátomo-clínicas. Ramos e Silva & Padilha Gonçalves [83] concluíram que a referida prova permite reforçar um diagnóstico clínico de esporotricose, em 48 horas, sendo que a capacidade reacional dos esporotricósicos ao referido antígeno é duradoura. Deve-se ressaltar ainda o valor da prova no tratamento da esporotricose, segundo observações bem conduzidas de Noronha Miranda & col.[53].

A medicação iódica é altamente eficaz no tratamento da esporotricose; todavia, outras medicações também se têm mostrado eficazes, se bem que empregadas em casos isolados. Nossa experiência com a esporotriquina se eleva a mais de 100 casos, tendo sempre obtido resultados bastante convincentes quanto ao grande valor da referida prova no diagnóstico imuno-alérgico da esporotricose. No momento atual, estamos trabalhando exclusivamente com a "esporotriquina-naveta", obtendo-se a variante leveduriforme do *Sporotrichum schencki*.

Belliboni & Patrício [9] trataram com êxito dois casos de esporotricose com o "Glucantime" (antimoniato de N-metilglucamina), preparado que anteriormente já havia sido ensaiado por Baptista & col.[8]. Não se conhece o mecanismo exato de ação da droga, já que a mesma não possui "in vitro" ação fungistática sôbre o *Sporotrichum schenki*.

Raríssimos casos de micoses gomosas por outros fungos que não os do gênero *Sporotrichum* têm sido assinalados no continente sul-americano, tais como lesões provocadas por fungos dos gêneros *Hemispora*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Acladium*, *Acremoniella* e *Acremonium*.

ACTINOMICOSE

A actinomicose ocorre com relativa freqüência na América do Sul. No Brasil predominam os casos de localização podal, provocados pelo *Actinomyces* (*Nocardia*) *brasiliensis*, fungo identificado em 1909 por Lindenberg, em São Paulo. Mais raros são os casos determinados pelo *Cohnistreptothrix Israeli* (*Actinomyces bovis*), geralmente sob a forma de lesões cérvico-faciais ou tóraco-pulmonares. O mesmo fato não ocorre, porém, em outros países do continente sul-americano, onde a forma cérvico-facial de actinomicose é a mais freqüente. A actinomicose, sob o aspecto clínico e micológico, mereceu de nossa parte, em 1945, estudo aprofundado, devendo-se também citar as contribuições de Yasbek [93] e de Mackinnon & Artagaveytia-Allende [46], esta última sob o aspecto micológico. As lesões ósseas são relativamente freqüentes na actinomicose e sôbre tais processos publicamos, em 1945, trabalho monográfico.

A actinomicose provocada pelo *Actinomyces brasiliensis* não existe sòmente no continente sul-americano, pois, em 1956, Vanbreuseghem & col.[92] registraram dois casos de actinomicose por aquêle fungo em indígenas do Congo Belga. Assinale-se também a presença do mesmo fungo no México, com estudos de Gonzales Ochoa [28], principalmente. No Brasil, Almeida [4], em 1940, descreveu um caso de actinomicose torácica em agricultor canadense, que residia há anos no Chaco paraguaio; tal caso, segundo Almeida [4], foi provocado por nova espécie de *Actinomyces* — o *Actinomyces paraguayensis*. Mackinnon & Artagaveytia-Allende [46] acreditam ser o *Actinomyces paraguayensis* espécie muito próxima ao *Streptomyces albus*. Casos raros de actinomicose determinados pelo *Actinomyces Pelletieri* (Laveran, 1906), bem como pelo *Actinomyces madurae* (Vincent, 1894) também já foram descritos no continente sul-americano.

Nada de particular apresenta o estudo da actinomicose no continente sul-americano. Apenas desejamos assinalar o grande valor da medicação sulfamídica (Sulfisoxazol, por exemplo) e sulfonamídica no tratamento da actinomicose pelo *Actinomyces brasiliensis*. Esta última medicação foi ensaiada pela primeira vez, no México, por Ochoa & col.[29].

MADUROMICOSE

A maduromicose, em relação à actinomicose, é de distribuição muito limitada. Trata-se de infecção relativamente rara, com lo-

calização predominantemente podal, de marcha crônica, não comprometendo o estado geral do doente, podendo-se clìnicamente separar tais processos dos de natureza actinomicótica. Assim, as lesões de maduromicose geralmente não são piogênicas, tratando-se mais de processo fibroplástico, duro à palpação, com depressões e elevações mamelonadas. Quase sempre é escassa a secreção sero-sanguinolenta que se elimina pelas fístulas.

No Brasil, segundo LACAZ & FAVA NETTO [37], cogumelos identificados como *Monosporium apiospermum, Cephalosporium falciforme* e *Madurela grisea* são os mais freqüentemente isolados de casos de maduromicose. No Brasil, até 1957, 20 casos de maduromicose haviam sido registrados, sendo que apenas um dêles de localização cérvico-facial e provocado por espécie não identificada de *Madurella*. Tal observação, de CORRÊA & FAVA NETTO [20] refere-se a um caso de maduromicose da face, com aspecto de lesões fistulizadas múltiplas.

Madurella grisea constitui espécie de fungo causador de maduromicose e identificado por MACKINNON & col.[49, 50], no Uruguai, seguindo-se a observação de outros casos no Brasil e, também, fora do continente sul-americano. Assim, em 1956, VANBREUSEGHEM [91] referia uma observação de maduromicose provocada por êste fungo, no Congo Belga, e NEUHAUSER [60] novo caso nos Estados Unidos.

Além da maduromicose cutânea, segundo MACKINNON & col.[49, 50], fungos anemófilos diversos, principalmente do gênero *Aspergillus*, quando inalados, podem determinar lesões parenquimatosas que, no seu estádio final, modificam o aspecto do cogumelo no tecido, assumindo o fungo formas de grão, como que elementos enclausurados. MACKINNON & col.[49, 50] registram, neste particular, observação de Sotello, de paciente que falecera com lesões de fibrose pulmonar, pleural e pericárdica. Em tais lesões comprovou-se a existência de grãos parasitários, possìvelmente do *Aspergillus fumigatus*.

Acremoniella Lutzi LEÃO & LÔBO, 1940, isolada de um caso de maduromicose, no Brasil, foi considerada por MACKINNON [45] como sinônimo de *Monosporium apiospermum*. Êste último cogumelo também já foi isolado na Argentina e em outros países da América do Sul.

*

Além das micoses profundas referidas anteriormente, devemos assinalar a ocorrência, na Argentina, de micoses pulmonares por cogumelos do gênero *Trichosporon*. NEGRONI [57] registra dois casos de lesões pulmonares pseudotuberculosas, ambos da província de San Juan, cujos agentes foram identificados como *Trichosporon cutaneum* e *Trichosporon fermentans*, respectivamente.

Como complemento a êste relatório devemos assinalar que, no Brasil, SPINA FRANÇA NETTO & col.[26] assinalaram um caso considerado como de cromomicose do sistema nervoso; todavia, o aspecto do parasita nos cortes histológicos sugere a possibilidade de se tratar de "cladosporiose" do sistema nervoso. O paciente apresentava síndrome de hipertensão intracraniana com 4 meses de evolução progressiva. Clìnicamente foi verificada hemiparesia direita e papiledema bilateral. Como não foi praticada cultura, nada podemos afirmar sôbre o fungo agente do referido processo. Uma das hipóteses que levantamos é a de que se trate de micose cerebral por *Cladosporium trichoides*.

SUMMARY

Clinical and epidemiological aspects of deep mycoses in South America.

The deep mycoses are frequent in South America. Exceptions are the mycoses produced by fungi of the genus *Cercospora* and *Basidiobolus*, which up to this date, were not found in this continent. On the other hand, two deep mycoses are peculiar to the South American territory; they are South American blastomycosis and keloid blastomycosis, or "Jorge Lôbo blastomycosis". This last kind of blastomycosis has a limited distribution and is found chiefly in persons who work in latex extraction in Amazonas and among Indians in the central part of Brazil.

Doing the analysis of the epidemiological aspects of the deep mycoses in South Amer-

ica, the Author describes briefly its regional geography, with the purpose of bringing out the great importance of South American blastomycosis — a deep mycosis produced by *Paracoccidioides brasiliensis*, which almost always has a serious course and which was found in almost all the South American countries.

All the principal data concerning the history, geographical distribution, mycological aspects, sources of infection, anatomoclinical forms, differential diagnosis, laboratory diagnosis, anatomo-pathology, treatment and control of cure of this infection are presented.

The keloid blastomycosis, or "Lôbo's blastomycosis", is considered a clinical entity different from South American blastomycosis and produced by a new species of *Paraccidioides*, the *Paracoccidioides Loboi*. In the conception of this new form of blastomycosis, anatomo-clinical, histo-pathological, mycological and immunological data were taken into account.

Concerning the North American blastomycosis the Author believes that the majority of cases recorded were, as a matter of fact, cases of South American blastomycosis.

Cryptococcosis is found in South American countries with the classical aspects.

Cromomycosis is of common occurrence, mainly in Brasil, where many scientific papers and theses have been written about the matter. In the treatment of cromomycosis it is noteworthy the good results that Bopp [10] obtained with the association of iodic medication to D_2 vitamin.

Histoplasmosis has been studied very carefully as of late in various countries of South America, mainly after the demonstration by means of the histoplasmin test, that there are many reactors among the people. *Histoplasma capsulatum* has been isolated from the soil and from wild and domestic animals in South America, as well as in other countries of the world.

Up to the present coccidioidomyosis has not been found in Brazil, and in the other countries of South America it does not represent an important epidemiological problem. Coccidioidomycosis has been referred in Venezuela and Argentina, but in very few instances.

Rhinosporidiosis has been studied in Brazil mainly by Thiago de Mello [52] and most of the cases recorded were of the nasal form.

Sporotrichosis is very frequent, mainly in Brazil, where about 0.5 percent of all the dermatoses have this etiology. The most varying clinical forms are frequent in patients attended to in a dermatological "out patient service". The contribution of Brazilian researchers concerning the value of sporotrichin test in the diagnosis of sporotrichosis is important, and they have pointed out the great sensitiveness of the test (sporotrichin prepared with the yeast form of *Sporotrichum schencki*).

Actionmycosis is more frequent than maduromycosis, and in the majority of cases it is produced by *Actinomyces brasiliensis*, which was identified for the first time by Lindenberg (1909) in Brazil.

The fungi *Monosporium apiospermum*, *Cephalosporium falciforme*, and *Madurella grisea* are the most frequently recovered from cases of maduromycosis.

REFERÊNCIAS

1 — ALEIXO, J. — Subsídio ao estudo da cromomicose. Tese. Belo Horizonte, 1946.

2 — ALMEIDA, F. — As blastomycoses no Brasil. An. Fac. med. Univ. São Paulo **9**:69-163, 1933.

3 — ALMEIDA, F. — Nota a proposito de *Coccidioides immitis* e *Pseudococcidioides Mazzai*. An. Fac. m. Univ. São Paulo **10**:29-31, 1934.

4 — ALMEIDA, F. — Actinomicose de grãos pretos. Folia clin. et biol. **12**:7-10, 1940.

5 — ALMEIDA, F. & LACAZ, C. S. — Cogumelo do gênero *Histoplasma* isolado de lesões de cromomicose. Associação de fungos nas lesões. Folia clin. et biol. **9**:65-69, 1939.

6 — ALMEIDA, F.; SAMPAIO, S. A. P.; LACAZ, C. S. & FERNANDES, J. C. — Dados estatísticos sôbre a esporotricose. Análise de 344 casos. An. brasil. dermat. e sif. **30**:9-12, 1955.

7 — AZULAY, R. D. — Cromoblastomicose. Clínica e Laboratório. Tese. Rio de Janeiro, 1944.

8 — BAPTISTA, L.; BELLIBONI, N. & CASTRO, R. M. — Caso de esporotricose tratado pelo antimoniato de N-metilglucamina. Rev. paulista med. **41**:52-55, 1952.

9 — BELLIBONI, N. & PATRICIO, L. D. — Tratamento da esporotricose pelo Glucantime. Considerações a respeito de dois casos. Rev. Hosp. clín. **11**:118-120, 1956.

10 — BOPP, C. — Tratamento da cromoblastomicose pelo Calciferol. Pôrto Alegre, Livraria do Globo, 1957.

11 — CAMPINS, H. — Coccidioidomicosis: un nuevo problema de salud publica en Venezuela. Rev. san. y asist. social **15**:1-8, 1950.

12 — CAMPINS, H. — Micosis profundas endémicas en Venezuela. Mem. del VI Congr. Venezol. Cienc. Méd. **5**:2787-2876, 1955.

13 — CAMPINS, H. & SCHARYJ, M. — Cromoblastomicosis. Comentarios sobre 34 casos con estudio clinico, histologico y micologico. Gac. méd. Caracas **61**:127-151, 1953.

14 — CAMPINS, H.; SCHARYJ, M. & GLUCK, V. — Coccidioidomicosis (Enfermedad de Posadas). Arch. venezol. patol. trop. y parasitol. méd. **1**:215-234, 1949.

15 — CAMPINS, H.; ZUBILLAGA, Z.; GÓMEZ LÓPEZ, L. & DORANTE, M. — Estudio de una epidemia de histoplasmosis en el Estado Lara, Venezuela. Gac. méd. Caracas **62**: 85-109, 1955.

16 — CANCELA FREIJÓ, J. — Histoplasmosis. Enfermedad de Darling. An. Fac. med. Montevideo **34**:1049-1152, 1949.

17 — CARVALHO, A. — Novos ensaios sôbre os reatores positivos à histoplasmina na cidade do Rio de Janeiro. Estudo baseado em 3.653 indivíduos. Rev. brasil. tuberc. **22**: 693-772, 1954.

18 — CAVALCANTI, J. T. M. — Contribuição ao estudo das chromoblastomycoses. Tese. Rio de Janeiro, 1924.

19 — CIFERRI, R.; AZEVEDO, P. C.; CAMPOS, S. & CARNEIRO, L. S. — Taxonomy of Jorge Lobo's disease fungus. Publ. Inst. micol. Univ. Recife nº 53, 1956.

20 — CORRÊA, A. & FAVA NETTO, C. — Maduromicose da face. Rev. Hosp. clín. **8**:10-18, 1953.

21 — FARINA, R. — Tratamento cirúrgico da cromomicose. Rev. Hosp. clín. **5**:33-36, 1950.

22 — FAVA NETTO, C. — Estudos quantitativos sôbre a fixação do complemento na blastomicose sul-americana com antigeno polissacaridico. Tese. São Paulo, 1955.

23 — FIALHO, A. — Localizações pulmonares da micose de Lutz. Anatomia patológica e patogenia. Tese. Rio de Janeiro, 1946.

24 — FLOCH, H. — Révue critique des investigations et de la littérature mycologique pour les années 1946-1956 en Guyane Française. Mycopath. et mycol. appl. **8**:194-205, 1957.

25 — FONSECA, J. B. — Blastomicose sul-americana. Estudo das lesões dentárias e paradentárias sob o ponto de vista clínico e histopatológico. Tese. São Paulo, 1957.

26 — FRANÇA NETTO, A. S.; BRITO, T. & ALMEIDA, F. P. — Cromomicose do sistema nervoso. Estudo anátomo-clínico de um caso. Arq. neuro-psiquiat. **11**:265-277, 1953.

27 — GINÉS, A.; GOULD, E. & TALAVERA, M. S. M. — Intradermorreación con histoplasmina (Contribución al estudio de la histoplasmosis en el Paraguay). Hoja tisiol. **9**: 354-363, 1949.

28 — GONZÁLEZ OCHOA, A. — Estudio comparativo entre *Actinomyces mexicanus, A. brasiliensis* y *A. asteroides*. Rev. Inst. salub. y enferm. trop. **6**:155-162, 1945.

29 — GONZÁLEZ OCHOA, A.; SHIELS, J. & VÁSQUEZ, P. — Acción de la 4.4-diamino-difenilsulfona frente a *Nocardia brasiliensis*. Gac. méd. México **82**:345-353, 1952.

30 — GUIMARÃES, F. N. & MACEDO, D. G. — Contribuição ao estudo das blastomicoses na Amazônia (blastomicose queloideana e blastomicose sul-americana). Hospital, Rio de Janeiro **38**:223-253, 1950.

31 — GUIMARÃES, N. — Cromoblastomicose (Micose de Lane e Pedroso). Aspectos atuais do tema. Tese. Bahia, 1951.

32 — LACAZ, C. S. — Contribuição para o estudo dos actinomicetos produtores de micetoma. Tese. São Paulo, 1945.

33 — LACAZ, C. S. — Contribuição para o estudo das micoses com lesões ósteo-articulares. São Paulo, Edigraf, 1945.

34 — LACAZ, C. S. — Lesões pulmonares na blastomicose sul-americana. Inquérito preliminar realizado com a paracoccidioidina. Hospital, Rio de Janeiro **39**:405-422, 1951.

35 — LACAZ, C. S. — South-American blastomycosis. An. Fac. med. Univ. São Paulo **29**:1-120, 1955/1956.

36 — LACAZ, C. S.; DEL NEGRO, G.; LUISI, A. & CASTRO, R. M. — Histoplasmose na infância. Comentários sôbre um caso. Revisão da literatura nacional. Novos dados sôbre a histoplasmina em nosso meio. Rev. paulista med. **47**:495-509, 1955.

37 — LACAZ, C. S. & FAVA NETTO, C. — Contribuição para o estudo dos agentes etiológicos da maduromicose. Folia clin. et biol. **21**:331-332; **21**:413-432; **22**:303-337, 1954.

38 — LACAZ, C. S.; STERMAN, L.; MONTEIRO, E. V. L. & PINTO, D. O. — Blastomicose quedoideana. Comentários sôbre novo caso. Rev. Hosp. clín. **10**:254-264, 1955.

39 — LEÃO, A. E. A. & LÔBO, J. — Micetoma podal de grãos brancos, *Acremoniella Lutzi*, n. sp. Acta med., Rio de Janeiro **4**:211-221, 1939.

40 — LEÃO, A. E. A.; MELLO, M. T. & CURY, A. — Cromoblastomicose experimental. Rev. brasil. biol. **7**:5-24, 1947.

41 — LEITE, J. M. — Doença de Jorge Lôbo. Contribuição a seu estudo anátomo-patológico. Tese para professor catedrático. Belém, 1954.

42 — LEÓN, L. A. & CRESPO, J. A. — Revisión historica de las micosis en la Republica del Ecuador. Trabalho apresentado à "Reunión de Expertos Latino-Americanos en Micologia", Montevideo, 2-4 de março, 1957.

43 — MACKINNON, J. E. — El granuloma coccidioidico en America del Sur. An. Inst. hig. Montevideo **2**:74-84, 1948.

44 — MACKINNON, J. E. — Los agentes de maduromicosis de los géneros *Monosporium, Allescheria, Cephalosporium* y otros de dudosa identidad. An. Fac. med. Montevideo **36**:153-180, 1951.

45 — MACKINNON, J. E. — A contribution to the study of the causal organisms of maduromycosis. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. **48**:470-480, 1954.

46 — MACKINNON, J. E. & ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. — The main species of pathogenic aerobic actinomycetes causing mycetomas. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. **50**:31-40, 1956.

47 — MACKINNON, J. E.; ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & ARROYO, L. — Sobre la especificidad de la intradermorreación con paracoccidioidina. An. Fac. med. Montevideo **38**:363-382, 1953.

48 — MACKINNON, J. E.; ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C.; VINELLI, H.; NIÑO, F. L.; FERRADA-URZÚA, L. V.; ALONSO, G. & DONOSO, R. — Investigaciones sobre la sensibilización a la coccidioidina y su significado en varias zonas de los países meridionales de America del Sur. An. Fac. med. Montevideo **35**:1117-1137, 1950.

49 — MACKINNON, J. E.; FERRADA-URZÚA, L. V. & MONTEMAYOR, L. — Investigaciones sobre las maduromicosis. An. Inst. hig. Montevideo **21**:128-138, 1948.

50 — MACKINNON, J. E.; FERRADA-URZÚA, L. V. & MONTEMAYOR, L. — Investigaciones sobre las maduromicosis y sus agentes. An. Fac. med. Montevideo **34**:231-300, 1949.

51 — MEDINA, H. & BODZIAK Jr., C. — Contribuição ao conhecimento do ciclo extraparasitário do *Paracoccidioides brasiliensis* (Almeida, 1931). Rev. méd. Paraná **18**:145-148, 1949.

52 — MELLO, M. T. — Estudos sôbre o *Rhinosporidium Seeberi*. Tese. Rio de Janeiro, 1946.

53 — MIRANDA, R. N.; CUNHA, C.; PINHO, A. & SCHWEIDSON, J. — A esporotricose. Rev. méd. Paraná **24**:24-56, 1955.

54 — MOLESE, A.; PANE, A.; VINGIANI, A. & PAGANO, A. — Su di un caso di granulomatosi paracoccidioidea (Malattia di Lutz-Splendore-De Almeida). Gior. mal. infett. e parassit. **9**:241-243, 1957.

55 — MONTENEGRO, M. R.; BRITO, T.; LACAZ, C. S. & LOMBARDI, J. — Mucormicose intestinal. Registro de dois casos. Rev. Hosp. clín. **14**:59-64, 1959.

56 — MOTTA, L. C. & PUPO, J. A. — Granulomatose paracoccidioidica ("blastomicose brasileira"). An. Fac. med. Univ. São Paulo **12**:407-426, 1936.

57 — NEGRONI, P. — Desarollo de los estudios micologicos en la Argentina en el ultimo decenio. Mycopath. et mycol. appl. **8**:216-238, 1957.

58 — NEGRONI, P.; BRIZ DE NEGRONI, C.; DAGLIO, C. A.; VIVANCOS, C. & BONATTI, A. — Estudios sobre el *Coccidioides immitis* Rixford et Gilchrist. XII. Cuarta contribución al estudio de la endemia argentina. Rev. argent. dermatosif. **36**:269-275, 1952.

59 — NEGRONI, P.; GATTI, J. C.; CARDAMA, J. E. & BALIÑA, L. M. — La blastomicosis sud-americana en la Argentina. A proposito de una observación. Rev. argent. dermatosif. **35**:221-230, 1951.

60 — NEUHAUSER, I. — Black grain maduromycosis caused by *Madurella grisea*. Arch. Dermat. & Syph. **72**:550-555, 1955.

61 — NIÑO, F. L. — Blastomicosis humana generalizada por *Cryptococcus* (n. sp.). Misión de Estudios de la Patologia Regional Argentina: monografia nº 3. Buenos Aires, Imprenta de la Universidad, 1934.

62 — NIÑO, F. L. — Contribución al estudio de las blastomicosis en la República Argentina. Bol. Inst. clin. quir. **14**:591-1042, 1938.

63 — NIÑO, F. L. — Nueva observación de coccidioidomicosis en la República Argentina. Bol. Inst. clín. quir. **26**:71-79, 1950.

64 — NIÑO, F. L. — Dos nuevas observaciones de histoplasmosis en la República Argentina. Prensa méd. argent. **44**:2508-2512, 1957.

65 — NIÑO, F. L. & FREIRE, R. S. — Existencia de un foco endémico de rinosporidiosis en la provincia del Chaco. Prensa méd. argent. **44**:2914-2919, 1957.

66 — NOVA, R. — Formas oto-rino-laringológicas das blastomicosis. Congr. Sul-amer. Otorrinolaringol., 1º, Buenos Aires, 1940.

67 — OLIVARES, O.; AHUMADA, J.; VACCARO, H.; PAREDES, L. & POZO, S. — Histoplasmosis generalizada. Primer caso autoctone en Chile. Aspectos clínico y imuno-bacteriologico. Rev. méd. Chile **80**:746-757, 1952.

68 — PARÁ, M. — Histoplasmosis in Brazil. Am. J. Trop. Med. 26:273-292, 1946.

69 — PEDROSO, A. & GOMES, J. M. — Sobre quatro casos de dermatite verrucosa produzida pela *Phialospora verrucosa*. An. paulist. med. e cir. 11:53-61, 1920.

70 — PEREIRA, O. B. — Micologia das cromomicoses. Identificação dos dois primeiros casos autoctones do Rio Grande do Sul (*Hormodendrum Negroni* n. sp.). Tese. Pôrto Alegre, 1938.

71 — PEREIRA FILHO, M. J. — Estudos do agente da blastomicose sul-americana. An. Cinqüentenário Fac. med. Pôrto Alegre 2: 111-142, 1951.

72 — PEREIRA FILHO, M. J. — Os fungos da doença de Adolfo Lutz, da doença de Jorge Lôbo e o da blastomicose dos índios do Alto Xingu (Brasil Central — Estado de Mato Grosso). Rev. med. Rio Grande do Sul 14:1-13, 1957.

73 — PERRY, H. O.; WEED, L. A. & KIERLAND R. R. — South American blastomycosis. Report of case and review of laboratory features. Arch. Dermat. & Syph. 70:477-482, 1954.

74 — POSADAS, A. — Un nuevo caso de micosis fungoidea con Psorospermias. An. Circ. argentino 15:585-597, 1892.

75 — POSADAS, A. — Contribución al estudio de los tumores. Psorospermiosis infectante generalizada. Tese. Buenos Aires, 1894.

76 — POZO AGUIRRE, S. — Estado actual de la micologia en Chile. Trabalho apresentado à "Reunión de Expertos Latino-Americanos en Micologia", Montevideo, 2-4 de março, 1957.

77 — REIS, J. B. & BEI, A. — O liquido cefalorraqueano no diagnóstico da criptococose do sistema nervoso. Arq. neuro-psiquiat. 14: 201-212, 1956.

78 — ROCHA, H. — Cromomicose conjuntival primitiva. Ophtalmos 3:205-211, 1943.

79 — RUBIO, A. C. — La blastomicosis sudamericana en el Peru. Rev. méd. peruana 27: 610-656, 1956.

80 — SAMPAIO, S. A. P. & LACAZ, C. S. - Ação so Sulfisoxazol na actinomicose provocada pelo *Actinomyces brasiliensis*. Hospital, Rio de Janeiro 50:795-802, 1956.

81 — SAMPAIO, S. A. P.; LACAZ, C. S. & ALMEIDA, F. — Aspectos clínicos da esporotricose em São Paulo. Rev. Hosp. clín. 9: 391-402, 1954.

82 — SILVA, D. B. — Micose de Lane e Pedroso (cromomicose ou cromoblastomicose). Tese. Belém, 1955.

83 — SILVA, J. R. & GONÇALVES, A. P. — Nota sôbre o valor diagnóstico da esporotriquina. Hospital, Rio de Janeiro 38:625-631, 1950.

84 - SILVA, M. E. — Isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo em zona endêmica de calazar na Bahia, Brasil. Bol. Fundação Gonçalo Moniz nº 10, 1956.

85 — SILVA, M. E. & PAULA, L. A. — Infecção natural de ratos pelo *Histoplasma capsulatum* na cidade do Salvador, Bahia. Bol. Fundação Gonçalo Moniz nº 9, 1956.

86 — SILVA, N. N. — Cromoblastomicose no Rio Grande do Sul. Aspecto clínico, micológico e experimental. An. brasil. dermat. e sif. 24:113-145, 1949.

87 — SILVA, N. N. — Esporotricose. Sua freqüência no Rio Grande do Sul. Patologia e Clínica 1:3-17, 1951.

88 — SPLENDORE, A. — Un'affezione micotica con localizzacione nella mucosa della bocca osservata in Brasile, determinate da funghi appartenenti alla tribù degli Exiascei (*Zymonema brasiliense*, n. sp.). Roma, Tip. Nazionale di G. Bertero, 1912.

89 - TIBIRIÇÁ, P. Q. T. — Anatomia patológica da dermatite verrucosa cromomicótica. Tese. São Paulo, 1939.

90 — TREJOS, A. & ROMERO, A. — Contribución al estudio de las blastomicosis en Costa Rica. Rev. biol. trop. 1:63-81, 1953.

91 — VANBREUSEGHEM, R. — À propos d'une souche de *Madurella grisea* Mackinnon 1949 isolée au Congo Belge. Ann. Soc. belge méd. trop. 36:467-478, 1956.

92 - VANBREUSEGHEM, R.; COURTOIS, C.; THYS, A. & DOUPAGNE, P. — Deux cas de mycétomes congolais par *Nocardia brasiliensis*. Ann. Soc. belge méd. trop. 36: 479-486, 1956.

93 — YASBEK, A. K. — Dos micetomas. Tese. São Paulo, 1920.

Recebido para publicação em 19 de fevereiro de 1959.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
1(2):165-171, julho-agôsto 1959

AS CARACTERÍSTICAS DA MEDICINA, NO BRASIL, E OS PROBLEMAS DE FORMAÇÃO E ATIVIDADE PROFISSIONAIS [1]

Mário PINOTTI [2]

RESUMO

O país possuía, em 1955, quase 24.500 médicos distribuídos de modo bastante desigual, desde o Distrito Federal com 1:330 habitantes, até o Maranhão com 1:14.458 pessoas. Na Capital e no Estado de São Paulo, concentram-se 60% dos médicos, sendo que mais de mil municípios brasileiros não dispunham de nenhum profissional.

Essa situação é própria das regiões subdesenvolvidas onde populações pobres não dispõem de recursos para manter serviços médicos mesmo dos mais simples. Daí o Estado avocar a si a medicina como serviço de utilidade pública. Grande parte dos médicos passam assim à condição de assalariados nos países de fraca economia capitalista, que procuram arremedar as iniciativas que, com outro espírito e programa, adotam os países de economia socialista.

Não podendo esperar que todo o país se desenvolva para resolver seus problemas de assistência, urge adotar medidas para o aproveitamento de médicos por parte dos poderes públicos. Uma Unidade de Saúde deve formar-se em tôrno de cada médico nos municípios. É indispensável elevar a remuneração do médico de modo condigno para tornar a profissão mais atraente, especialmente na zona rural. Tempo integral, amparo ao profissional, facilidades de transporte, instituição da aposentadoria, etc., devem trazer maior tranqüilidade de espírito e segurança material para mais eficiente atividade.

Das 20 Faculdades de Medicina que dispomos, muitas não se encontram suficientemente equipadas para ministrar ensino adequado. No entanto precisamos aumentar não só a quantidade como a qualidade dos médicos adaptando inclusive os programas para formar profissionais de acôrdo com as exigências da nosologia do país ou, mesmo, de cada região, pois o quadro nosológico depende de condições geográficas, climáticas, étnicas e principalmente econômico-sociais. No subdesenvolvimento, a saúde situa-se em baixo nível, com alta mortalidade infantil (215 óbitos de infantes por mil nascidos vivos, no Nordeste, e 490 em Natal, em 1957), tuberculose (200 óbitos por cem mil em Vitória), vida média curta, etc.

O interior necessita de médicos polivalentes e com conhecimentos essenciais de saúde pública rural, apoiados na atuação especializada dos colegas das cidades maiores.

A medicina preventiva deve ser parte integrante e essencial da prática cotidiana e não apanágio de técnicos especializados.

Mas, ao lado de programas a longo prazo, devemos empreender outros de alcance imediato. Tal a idéia lançada do aproveitamento compulsório dos médicos recém-formados, pelo Exército, para trabalho remunerado no interior pelo prazo de um ano, em lugar do serviço militar.

(*Resumo do Ed.*)

---

(1) Êste texto constitui a parte central do discurso pronunciado pelo insigne sanitarista patrício, em 25-6-1959, quando recebia da Universidade de São Paulo o título de Doutor "Honoris Causa".

(2) Ministro de Estado da Saúde.

PINOTTI, M. — As características da medicina, no Brasil, e os problemas de formação e atividade profissionais. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:165-171, 1959.

CARÊNCIA DE MÉDICOS NO PAÍS

Segundo dados, incompletos, levantados pelo Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina, existiam, em 1955, 24.491 médicos em todo o país, o que dá, para o Brasil, com a população estimada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, a quota de 1 médico para 2.394 pessoas.

Conquanto tenham, desde então, sido criadas algumas novas Faculdades de Medicina, esta quota não deve ter sofrido apreciável modificação, pois ainda não houve tempo para que essas Faculdades formassem suas primeiras turmas.

O mínimo se verifica, com 1 médico para 331 pessoas, no Distrito Federal, e o máximo no Maranhão, com 1 médico para 14.458 pessoas. Com 1 médico para 1.640 pessoas, vem São Paulo em segundo lugar.

Com mais de 5.000 pessoas por médico, estão o Amazonas, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Bahia, Santa Catarina e Mato Grosso. Com menos de 3.000 pessoas por médico acham-se apenas o Estado do Rio de Janeiro, o Distrito Federal, São Paulo, Goiás e Rondônia.

O Distrito Federal, como sede do Govêrno Federal, apresenta natural possibilidade de maior número de médicos, dado ser a sede de numerosos serviços centrais. Isto, entretanto, não constitui tôda a explicação para a elevada quota que evidencia. Uma parte dos médicos registrados no Distrito Federal representa, na verdade, duplicidade de inscrição, efetuada, também, em outra Unidade do país.

Mas, mesmo ressalvadas estas circunstâncias, o Distrito Federal é, com o Estado de São Paulo, o foco convergente de médicos no Brasil. Somados, o Distrito Federal e São Paulo possuíam, em 1955, quase 60% dos médicos existentes no Brasil. Contrastam, assim, de modo chocante, com o restante de nosso território.

Nesse contraste, deve-se ainda considerar que destoariam os algarismos, ainda mais acentuadamente, se confrontássemos regiões dentro de uma mesma Unidade, pois é sabido que existem muito mais médicos nas cidades do que nas zonas de interior. Muitos municípios não chegam, mesmo, a ter um médico sequer, sendo maior o número dos precàriamente servidos. Dos 2.755 municípios, atualmente existentes no Brasil, cêrca de 1.053 eram desprovidos completamente de médico.

Atualmente, êsse número está reduzido a 921, que constituem 33% do total. Concorreu para essa melhoria o Ministério da Saúde, admitindo médicos para os municípios completamente desassistidos. Cento e trinta e dois dêsses municípios já foram atendidos nesse plano.

MEDICINA E SUBDESENVOLVIMENTO

Nossa situação é compreensìvelmente inferior à dos países mais adiantados, os quais necessitam òbviamente de maior número de médicos.

Com os elementos apresentados pela Organização Mundial de Saúde, pode-se conhecer a situação em muitos países, em tôrno de 1955. No grupo dos países subdesenvolvidos verifica-se a quota de 1 médico para 73.300 pessoas na Indonésia, 35.000 na Arábia Saudita, 21.800 na África Equatorial Francesa, 20.900 no Congo Belga, 13.800 no Paquistão, 8.200 no Irã, 7.800 nas Filipinas, 5.100 na Índia, 4.000 na Síria, 3.700 na Turquia, 2.100 no Peru, 1.900 no México. Nos desenvolvidos, cabe 1 médico para 208 pessoas em Israel, 335 no Uruguai, 613 na Áustria, 645 na União Soviética, 664 na Suíça, 673 na Tchecoslováquia, 706 na Alemanha Federal, 721 na Nova Zelândia, 727 nos Estados Unidos, 944 no Japão.

Nossa precariedade de médicos nada apresenta, assim, de estranho, pois é uma expressão de subdesenvolvimento. No Brasil, as regiões de mais forte economia, mostram índices favoráveis, enquanto que as menos adiantadas revelam índices deficientes.

A razão disto é que a medicina é uma expressão de superestrutura em relação à infraestrutura econômico-social: os povos pobres e econômicamente fracos não podem dispor dos mesmos serviços médicos proporcionados pelo progresso econômico e social. A medicina, mesmo a mais simples, não é benefício que se adquira a custo desprezível.

A MEDICINA DE ESTADO

Por outro lado, o fato de que países, como o Brasil, tenham procurado encontrar a solução de seus problemas assistenciais pela medicina de Estado, concorre para que mais se acentui a concentração de médicos no âmbito das cidades. Estas, por seus recursos, sua densidade demográfica e as rendas que proporcionam, motivam a criação de serviços em maior intensidade que as zonas de interior. Nestas condições, os médicos encontram, nas cidades, maiores possibilidades de emprêgo, que lhes garante situação mais modesta, mas, em contraposição, mais segura e regular que a clínica variada, estafante e pouco compensadora das regiões afastadas.

O desequilíbrio na distribuição de médicos leva o Estado a dar mais um passo na oficialização da medicina, procurando, êle mesmo, prover diretamente às zonas menos atraentes.

A profissão médica tende, assim, cada vez mais, a ser assalariada nos países de fraca economia capitalista, que procuram arremedar as iniciativas que, com outro espírito e programa, adotam os países de economia socialista. Daí, a chamada "socialização da medicina", que, entre nós, não significa mais que o Estado avocar a si a medicina como serviço de utilidade pública.

Nossa precariedade assistencial não pode, todavia, ser "congelada", à espera de que todo o país se desenvolva, de sorte a assegurar uma sólida estrutura econômica capaz de suportar os gastos maiores da medicina. Aliás, no plano econômico coube à visão e à energia de estadista do Presidente Juscelino Kubitschek quebrar o fatalismo dêsse compasso de espera, com o programa de suas metas semeadoras de riquezas.

Devemos pensar realìsticamente que a medicina é indispensável ao próprio desenvolvimento econômico, pois os empreendimentos dessa natureza só podem ser realizados com o concurso do próprio homem, tanto mais necessário quanto menor o avanço da técnica em conseqüência do atraso social.

Se, assim, o desenvolvimento econômico concorre, genèricamente, para o progresso e, por conseguinte, a assistência médica, não devemos descurar as medidas que, especìficamente, visem a atendê-la.

Neste sentido, o aprovisionamento de médicos por parte dos poderes públicos deve ser continuado e estimulado. Para êste fim, cumpre interessar nessa providência o poder municipal para que, de alguma forma possível, participe das realizações sanitárias. A presença do médico deve ser o ponto de partida de uma pequena Unidade de Saúde, na qual sua atuação seja complementada, no mínimo, por uma atendente e um guarda sanitário.

Visando a distender-lhe o âmbito de ação, valerá o recurso de uma equipe volante, de preferência integrada por outro médico e uma atendente, que levará às populações mais distantes os benefícios desejáveis, embora limitados, da assistência médico-sanitária. Essas unidades volantes devem, para melhor planejamento de sua atuação, se articular com as unidades fixas, que as supervisionarão e lhes servirão de apoio.

A iniciativa do Governador Carvalho Pinto, através de seu dinâmico Secretário de Saúde, Fauze Carlos, de criar essas unidades volantes, encontra, pois, apoio em razões de ordem técnica e administrativa e nunca será de mais reconhecer o mérito dos dirigentes que pensam em horizontes mais amplos do que o recesso das cidades para abranger os homens do campo.

A REMUNERAÇÃO DO MÉDICO

Não podemos negligenciar outro aspecto fundamental que é o da remuneração e o da assistência ao próprio médico, para tornar a profissão mais atraente. A mocidade sente-se hoje menos atraída pela medicina, que, entre as carreiras preferidas, ocupa posição secundária.

Em 1958, matricularam-se nas Faculdades de Direito de todo o país 21.708 alunos, nas de Filosofia, Ciências e Letras 13.976, nas de Medicina 10.298, nas de Engenharia 10.017.

O médico, pela formação que se lhe exige, pela natureza árdua e delicada de sua profissão, deve receber remuneração condigna e dispor de elementos que tornem a profissão um objetivo de escolha para a mocidade estudiosa.

Não só no serviço público, como na atividade privada, o médico não pode ser man-

tido como um assalariado de baixo nível, parco de recursos, sem poder pensar superiormente em sua profissão, que exige tranqüilidade de espírito e segurança material, para ser exercida com eficiência.

Devemos admitir que, além de salário básico condigno, o tempo integral é uma necessidade para que a medicina possa ser exercida em condições eficientes para o profissional e a população. O caráter especializado de algumas atividades médicas requer dedicação exclusiva de seus ocupantes. Por outro lado, as condições de pauperismo de grande parte da população não permitem que a medicina seja praticada em tempo parcial, por absoluta impossibilidade de existir clínica remunerada, que complete os proventos do médico.

As dificuldades financeiras dos médicos que exercem a clínica particular devem, também, ser consideradas.

O poder público, conquanto não funcione aí como empregador ou controlador das condições de emprêgo, deve promover medidas que visem a assegurar amparo aos profissionais liberais da medicina.

A instituição de aposentadoria, mediante contribuição para os órgãos previdenciários, pode ser estimulada pelo poder público.

O combate ao curandeirismo, de modo hábil e persuasivo, firmado mais na educação da população do que na fôrça de repressão, dilatará as possibilidades profissionais do médico. A transferência da clientela do curandeiro para o médico não se faz com o sabre do policial.

O médico deve dispor de facilidades de transporte. Por isto, com o apoio de nosso colega, o preclaro Presidente Juscelino Kubitschek de Oliveira, estou procurando remover os óbices que se antepõem à venda aos médicos de automóveis a prazo.

AS FACULDADES DE MEDICINA E A FORMAÇÃO DE PROFISSIONAIS

Se, por todos êsses meios, podemos dar à profissão médica um incentivo, não nos devemos esquecer das questões relacionadas com sua preparação.

Dispomos de mais de 20 Faculdades de Medicina, algumas das quais ainda novas e a enfrentarem, titubeantes, as dificuldades dos primeiros tempos de funcionamento. Seu aparelhamento material é incompleto, faltando-lhes, inclusive, hospitais onde possa ser suficientemente efetuada a aprendizagem e o treinamento da clínica.

No entanto, a medicina é um conhecimento que não se conquista apenas nos livros e na ausência de meios materiais, principalmente nos dias que vivemos. Essas Faculdades devem, assim, ser amparadas se desejarmos que produzam médicos bastante capazes para uma profissão com as responsabilidades da medicina.

Uma grande ajuda e estímulo lhes podem, porém, proporcionar as Faculdades maiores e mais antigas, que dispõem de melhores instalações e de mais segura experiência no ensino. Elas podem abrir suas portas à cooperação às mais novas e débeis, para que em seus serviços estagiem e se aprimorem seus professôres. Revigorados pelo que viram e sentiram, êsses professôres constituirão, em suas Faculdades, uma elite pensante, que lhes imprimirá rumo positivo no caminho da elevação da qualidade de ensino que devem ministrar.

A Faculdade de Medicina de São Paulo pode representar um papel de relêvo neste sentido, habilitada, como está, a ser um centro de treinamento e aperfeiçoamento. Será, com justa razão, como que a Faculdade das Faculdades.

Os dramas por que passou, nos dias difíceis de seu início, não devem ser vividos pelas Faculdades que ora se constituíram. Forte e potente, como é, ajudará aos mais fracos.

Estou usando a linguagem de lealdade que, talvez, não agrade senão aos que não podem ver sua debilidade através da névoa compacta da vaidade inconsistente. Devemos ser realistas e nenhum sentido de realidade deve ser pôsto à margem se queremos pensar construtivamente para o bem dêste país.

Não vamos, entretanto, pensar que podemos ilimitadamente criar Faculdades de Medicina, ao ponto de as possuirmos em número excessivo e simplesmente destinadas a servir a interêsses pessoais. A medicina não pode ser ensinada sem um mínimo de requisitos materiais e pessoais e, de outra forma, seria criminosamente rebaixá-la até o

aviltamento. A vida e a saúde da população não devem, evidentemente, ficar à mercê do aventureirismo. Por outro lado, cumpre que tornemos o ensino médico objetivo, retirando-lhe todo o sentido de academicismo retumbante e ôco para a formação realmente profissional do médico.

O que devemos visar, essencialmente, é à preparação de um médico capaz de exercer, com dignidade e eficiência, sua profissão. Isto não se consegue sòmente com as reformas de ensino, pois só pode ser adquirido com a reforma de mentalidade e de programas de trabalho, que façam os professôres em seus próprios métodos, quando necessário, para se integrarem, efetivamente, na missão superior que a sociedade lhes confiou.

Não vou me distender em outras considerações acêrca de providências necessárias ao melhor rendimento e aprimoramento do ensino médico.

Desejei, apenas, pela franqueza construtiva com que procuro pautar minhas ações e pela experiência que possuo na administração sanitária, relembrar à Congregação de uma Faculdade extraordinàriamente eficiente, como esta, o papel que, mais uma vez, se reclama de São Paulo na ajuda ao Brasil.

ENSINO DE QUALIDADE E ADEQUADO À NOSOLOGIA BRASILEIRA

Nosso ensino médico atravessa momento difícil, pois não devemos tão sòmente pensar nos objetivos da quantidade desprezando os da qualidade.

A objetividade no ensino deve corresponder, por outro lado, a um programa de formação profissional adequado ao meio a que vão servir os médicos. Dêste ponto de vista, cumpre atender às características atuais da nosologia de cada região.

Sem me deter em considerações pormenorizadas, porque já me demorei muito em minha oração, não posso, entretanto, por pouco que seja, deixar sem referência que o quadro nosológico, em suas linhas gerais, é uma função explícita do desenvolvimento econômico-social.

Aceita-se, incontestàvelmente, que o quadro nosológico, além de depender das condições geográficas, climáticas e étnicas, representa, fundamentalmente, a característica de um dado momento econômico-social.

A saúde situa-se, de modo geral, em baixo nível no subdesenvolvimento, pelo pauperismo e atraso em que vivem as populações.

Nestas condições, a vida é mais curta e a mortalidade infantil assume a culminância de verdadeira calamidade pública, enquanto que os problemas de saúde são constituídos principalmente pelas doenças transmissíveis e os males que delas decorrem.

No Nordeste brasileiro, por exemplo, a mortalidade infantil alcança valores acima de 215 óbitos de menores de 1 ano por 1.000 nascidos vivos, chegando, mesmo, em Natal a ser de 490 por 1.000, em 1957. No entanto, em São Paulo, limitou-se a 76.

A mortalidade de doenças infectuosas e parasitárias foi, no referido ano, de 400 óbitos por 100.000 habitantes em Fortaleza e de 84 em São Paulo. A tuberculose causou 200 óbitos por 100.000 habitantes, em 1957, em Vitória, e 37 apenas, em São Paulo.

A vida média, no triênio 1949-51, foi de 38 anos em Recife e de 57,5 anos em São Paulo. Para 1953-55, a vida média alcança 59,4 anos na capital bandeirante.

Êstes contrastes demonstram como, em regiões desigualmente desenvolvidas de nosso país, os problemas sanitários são diversos.

Nos países ou regiões desenvolvidos, a mortalidade infantil é baixa e motivada apenas por causas congênitas que a medicina ainda não pôde remover. A Suécia, por exemplo, apresenta 17 óbitos de menores de 1 ano por 1.000 nascidos vivos.

A vida média alcança, e até ultrapassa, 70 anos. As doenças transmissíveis foram controladas ou erradicadas, ao passo que a maior longevidade propicia a oportunidade para as doenças degenerativas, que incluem o câncer, a arteriosclerose, o reumatismo crônico, o diabete, cárdio e nefropatias.

No desenvolvimento econômico, as doenças profissionais e as doenças mentais revelam importância notàvelmente maior que no subdesenvolvimento.

Êstes fatos nos mostram que os programas de medicina devem ser orientados consentâneamente com as realidades das situações a que se destinam. Por conseguinte, a formação de pessoal deve ser adequadamente ori-

entada, estabelecendo-se a necessária prioridade nos tipos profissionais desejados. Somos um país em que grande parte dos problemas médicos são ainda os do subdesenvolvimento, exigindo, para seu atendimento, um profissional médico apropriado.

Nosso interior necessita, sobretudo, de médicos polivalentes, médicos policlínicos, que possuam aptidão extensa, sem penetrar, porém, profundamente em cada assunto. Médicos que conheçam e pratiquem um tanto da clínica médica, da cirurgia, da obstetrícia, da pediatria, da dermatologia e que encontrem apoio, para sua atuação, na ação especializada de outros médicos das cidades maiores. Êsses médicos do interior devem, além disso, receber conhecimentos essenciais de saúde pública rural, para que possam resolver e orientar a solução local de numerosos problemas dessa ordem.

O médico da cidade caminha, entretanto, para a especialização, que lhe adstringe os horizontes, mas lhe aprofunda os conhecimentos.

A pós-graduação é, dêste modo, um objetivo a ser naturalmente considerado pelas Faculdades de Medicina.

Não devem estas, contudo, esquecer a ajuda que podem e devem proporcionar aos médicos do interior, através de cursos de atualização que lhes permitam, sem desnecessária perda de tempo, assimilar os progressos que a técnica vai determinando.

A MEDICINA PREVENTIVA NA PRÁTICA COTIDIANA

Em qualquer dos aspectos da formação e aperfeiçoamento, não se deve, entretanto, negligenciar a importância da medicina preventiva, em suas relações com a medicina geral.

Ainda há pouco, em meu discurso de posse, na Academia Nacional de Medicina, tive oportunidade de citar SMILLIE, grande teórico norte-americano de saúde pública, quando disse:

"O mais importante conceito dêste século, no campo da assistência médica, é ser a medicina preventiva, parte integral e essencial da prática cotidiana da medicina. Não é um corpo distinto de conhecimentos, a serem entendidos apenas por um técnico selecionado, que tenha sido altamente treinado nesse campo. Não há "especialidade" de medicina preventiva, do mesmo modo como existe especialidade em cirurgia, radiologia ou pediatria. Existe, naturalmente, uma especialidade de saúde pública, a qual é um corpo de conhecimentos bem delimitado e que requer um alto grau de seleção. Mas, a medicina preventiva deve ser relacionada com o diagnóstico, o tratamento e a reabilitação. Êstes são os quatro elementos básicos de todo planejamento continuado de assistência médica para cada paciente".

Dêste ponto de vista participam, aliás, os técnicos de modo geral. Em 1953, o 1º Congresso Internacional de Ensino da Medicina, reunido em Londres, sob os auspícios da Organização Mundial de Saúde, afirmou, em suas conclusões, que a medicina preventiva deve estar presente em todos os Departamentos das Escolas de Medicina, de tal modo que o ensino desta, ampliado num sentido humanístico, alcance todos os objetivos em benefício da sociedade a que deve servir.

Ainda recentemente, sob o patrocínio da mesma Organização e por interferência direta da Organização Panamericana de Saúde reuniram-se, em 1955, em Viña del Mar, no Chile, e, em 1956, em Tehuacan, no México, dois seminários de diretores das escolas médicas e professôres de medicina preventiva das Américas, nos quais se reafirmou a indeclinável necessidade de se fazer com que a medicina preventiva penetre no ensino da medicina curativa, para que uma só seja a medicina a ser ensinada e aprendida.

UMA SOLUÇÃO IMEDIATA PARA NOSSOS PROBLEMAS RURAIS

Cumpre, todavia, não esquecer que, ao lado dos programas cujos resultados se processam a longo prazo, devemos realizar aquêles que se destinam a um alcance mais imediato.

Como solução para esta necessidade, lancei uma idéia, que uns aceitaram e outros repeliram. Essa idéia consistiu no aproveitamento compulsório dos médicos recém-formados, pelo Exército, com o fim de se tornarem médicos da reserva, sem anteriormen-

te prestarem o serviço militar obrigatório. Êsses médicos dariam, por um ano, trabalho remunerado no interior, como tôda sua atividade para aquêle fim.

Os que se opõem a esta idéia acham que isto fere a liberdade do cidadão. Argumento, porém, com o fato de que o serviço militar é obrigatório e o estágio proposto, além de ser mais adequado à profissão, serviria, também, para que o jovem médico adquirisse inestimável experiência, ao mesmo tempo que beneficiaria uma população necessitada de seu auxílio.

Meus senhores,

Estas as considerações que me ocorreram ao espírito, sôbre tantos dos nossos problemas, ao vir receber e dizer da minha gratidão pelo gesto generoso dos meus colegas ilustres da Faculdade de Medicina de São Paulo.

São apenas observações e conclusões a que, com a experiência e o tempo, vamos chegando, na execução de programas de trabalho, no contacto direto com as atividades e necessidades de nossa classe, cujos bons serviços ao país nem sempre recebem justo reconhecimento. São, afinal de contas, simples sugestões, suscetíveis de aplicação, uma vez estudadas e depuradas por assembléias cultas e experientes no estudo dêsses problemas, como a constituída pelos mestres ilustres desta casa.

SUMMARY

In 1955 the country had almost 24,500 physicians distributed very unevenly throughout it, witness the Federal District which numbered 1 for each 300 inhabitants, and the State of Maranhão with 1 for each 14,458 inhabitants. Sixty per cent of the physicians pile at Rio de Janeiro and the State of São Paulo, while more than one thousand Brazilian cities do not number a single one.

This situation is characteristic of underdeveloped regions where poor populations are unable to support even the most simple medical services, and thus the State claims Medicine as a public service. As a result a great part of the physicians turn out to be people working for a salary, in countries with poor capitalist economy which mimic initiatives taken with another spirit and program by countries of socialist economy.

It stands to reason that it is impossible to wait for all countries to develop in order to tackle their problems of assistance, and thus it is necessary that the governments adopt measures to provide physicians where needed. A Sanitary Unit has to be shaped around each physician in the municipalities. It is imperative that the wages of the medical practitioners are raised accordingly so as to render the profession more attractive, especially in the rural areas; full-time, assistance to the professional, transport facilities, pensioning, etc., cause more peace of mind and financial security and thus contribute to a raised efficiency in their ativities.

Many of the 20 schools of medicine we number are not adequately equipped to provide good teaching. We need to increase the number as well as the quality of physicians, including adaptation of curricula to professional aspects according to the needs of the nosology of the country, we might even say of each region of the country, for the nosologic picture is directly linked with geographical, climatic, ethnic and, most important of all, socio-economic conditions. In underdeveloped countries health is low and presents high child mortality (215 deaths for each thousand children born living, in the Northeast, being 490 in Natal only, during 1957), tuberculosis (200 deaths for each hundred thousand inhabitants in Victoria), short medium life-span, etc.

The hinterland needs polyvalent practitioners with an essential knowledge of rural public health, to be assisted when necessary by the specialized knowledge of their big town colleagues.

Preventive medicine must be an integrant and essential part of daily practice and not the private business of specialized technicians.

Besides long-term programs one has to devise others with immediate results in scope. Thus the idea of newly graduated physicians, instead of any other kind of military service, being compulsorily engaged by the Army for a one-year period of paid medical services to be delivered in the hinterland.

(Editor's abstract)

Noticiário

CONGRESSO INTERNACIONAL SÔBRE A DOENÇA DE CHAGAS

Desenvolveram-se, de 5 a 11 de julho, nas dependências do Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, as sessões do Congresso Internacional destinado a assinalar condignamente o 50º aniversário da descoberta genial de Carlos Chagas.

No dia 4 houve uma sessão histórica no Ministério da Educação e no dia 5, pela manhã, visitou-se o túmulo de Carlos Chagas, realizando-se à noite a Sessão Magna Inaugural, na Faculdade Nacional de Medicina.

Na segunda-feira, às 9 horas, os trabalhos foram abertos com uma conferência do Prof. Almeida Prado sôbre "Aspectos patológicos da doença de Chagas", desenvolvendo-se depois as atividades, quer através da apresentação de trabalhos pelos autores, quer através de mesas redondas.

Os trabalhos distribuíram-se pelos seguintes temas: (1) Doença de Chagas nas Américas, (2) transmissores, (3) agente etiológico, (4) imunologia, (5) epidemiologia, (6) profilaxia, (7) patologia, (8) formas clínicas e (9) terapêutica.

Em relação ao primeiro tema, expuseram o problema nos respectivos países: Talice (Uruguai), Neghme (Chile), Romaña, Jörg e Moia (Argentina), Pifano (Venezuela), Woody (U.S.A.), Borba e Biagi (México) e Peñalver (América Central).

Catorze trabalhos versaram sôbre os transmissores, abrangendo a anatomia e histologia dos triatomíneos (Barth e Lacombe), a ecologia (Lucena), a biologia (Perlowagora-Szumlewicz), a distribuição geográfica (Limaverde e Salgado), etc.

Quase igual número de trabalhos foram apresentados sôbre o agente etiológico, constituindo talvez a parte mais original das comunicações. Além de estudos sôbre a morfologia dos *Trypanosomas* (Silva e Gaillard) e aspectos submicroscópicos (Meyer e Queiroga), mostraram os autores seus achados sôbre o metabolismo, destacando-se as pesquisas sôbre o metabolismo glicídico (Raw), das purinas (Fernandes) e nucleótides purínicos (Yoneda, Silva e Fernandes) e sôbre imuno-polissacárides (Moura Gonçalves e Yamaha). Foram relatadas pesquisas sôbre a presença de substâncias tóxicas (Eichbaum) e sôbre a produção de uma endotoxina (Coudert), o que despertou interêsse por se relacionar com o emprêgo descrito pelos autores russos Roskin e Klyueva como substância anti-cancerígena. Segundo o autor, a administração de um extrato liofilisado, por via parenteral, modificaria a evolução de neoplasias enxertadas no rato e no camundongo. Efeitos benéficos sôbre algumas formas de cânceres do homem foram referidos, se bem que inúmeras objeções foram levantadas ao valor científico dêsses trabalhos por quase todos os pesquisadores presentes à sessão.

Descreveram-se os efeitos de certas avitaminoses na suscetibilidade de ratos infectados com *T. cruzi* (Yaeger).

Quanto à imunologia, além dos problemas ligados ao diagnóstico pela reação de fixação do complemento (Almeida, Freitas, Siqueira, Muniz, etc.), outras questões foram abordadas, totalizando uma dezena de trabalhos.

A epidemiologia, esboçada primeiro pelo Prof. Viana Martins, foi enriquecida com os dados regionais do Ceará (Alencar), Distrito Federal (Rodrigues da Silva e Queiroz), Rio Grande do Sul (Primio), Bahia (Mangabeira e Serravalle), etc., bem como os relacionados à transmissão por transfusão de sangue (Mellone, Amato, Lopes, Pellegrino, Freitas, etc.). Animais reservatórios (Pessôa) e aspectos climáticos da doença de Cha-

gas (Aragão) foram passados em revista. Torrealba descreveu a geografia da moléstia de Chagas na Venezuela.

Também foram numerosos os trabalhos referentes à profilaxia (Dias, Neghme, Limaverde, Pinto, Vasconcellos, Paulini, Mello, Berti, Primio, etc.).

Em tôrno das questões de patologia travaram-se animados debates, dada a importância do assunto e as controvérsias geradas pelas interpretações até aqui oferecidas. Sôbre a anatomia patológica, discorreram Magarinos Tôrres, Berruti, Elejalde, Alvarenga, Mignone e Andrade, principalmente no que se relaciona com as lesões cardíacas; muitas observações referiam-se às lesões do sistema nervoso (Köberle, Fortes, Alencar, Elejalde, Cardoso, Meio, Musachio) e não menos numerosas as que sustentaram a discussão em tôrno do problema dos megas e moléstia de Chagas, no que diz respeito ao mecanismo patogênico.

Mais de 20 trabalhos incluíam-se no tema sôbre formas clínicas, abrangendo diagnóstico diferencial (Pondé), estudos da fase aguda (Rassi, Meira, Amato), sôbre a fase crônica e formas cardíacas (Miranda, Rojas, Taquini, Mauricio, Carneiro, Rassi, Pileggi), infecção congênita (Rezende e Barcellos) e na infância (Oliveira), forma nervosa (Couto), megaesôfago e megacólon (Neghme, Brasil, Rezende, Prata, Sette, Guimarães, Godoi, Buhler Vieira, Ramos, etc.).

Finalmente, quanto à terapêutica, fizeram-se ouvir Botafogo Gonçalves, Ferreira Fernandes, Goble, Talice, Seneca e Lattimer, Tavares e outros. Câmara Lopes e Ferreira Santos falaram sôbre o tratamento cirúrgico do megaesôfago.

Em relação a cada um dos temas realizou-se uma mesa redonda para mais amplo debate dos assuntos, além de que várias conferências tiveram lugar durante o Congresso: Fraga de Azevedo sôbre a tripanosomíase africana; Felix Pifano sôbre a tripanosomíase rangeli na Venezuela; W. W. Frye sôbre os antibióticos nas doenças transmissíveis; Tulio Pizi sôbre problemas de imunologia em relação ao *T. cruzi*.

Em sessão da Academia Nacional de Medicina, o Ministro Mário Pinotti discorreu sôbre a ação governamental no combate à doença de Chagas.

Êste Congresso, que se caracterizou pelo elevado e seleto comparecimento bem como pelo nível dos trabalhos apresentados, constitui, a par de muito justa homenagem à memória de nosso grande Carlos Chagas, um fator de incentivo à pesquisa e de aproximação entre aquêles que de uma forma ou de outra colaboram na luta contra a moléstia de Chagas. Destacou-se, ainda, pela perfeita organização, tendo publicado com antecedência um volume contendo os resumos dos trabalhos apresentados.

I CURSO PARA A FORMAÇÃO DE MÉDICOS TROPICALISTAS

Estão abertas as inscrições para o curso destinado à formação de médicos tropicalistas. Até o dia 30 de setembro, os candidatos deverão apresentar, no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, o seu "curriculum vitae", para a devida seleção, pois o número de vagas está limitado a 25. Sòmente serão aceitas inscrições de médicos, nacionais ou estrangeiros. O início das aulas será em janeiro de 1960 e a duração do curso de 3 meses.

Os trabalhos clínicos serão desenvolvidos na Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas (Serviço do Prof. J. A. Meira) e no Hospital de Isolamento. A parte de exercícios práticos será efetuada nos laboratórios dos Departamentos de Microbiologia e Imunologia (Serviço do Prof. C. S. Lacaz) e de Parasitologia (Serviço do Prof. A. D. F. Amaral) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O Instituto de Medicina Tropical conta ainda com a colaboração de diversos órgãos e serviços do Hospital das Clínicas e da Secretaria de Saúde.

O curso de Medicina Tropical terá caráter intensivo, recebendo os aprovados um diploma de médico tropicalista, assinado pelos Diretores do Instituto de Medicina Tropical e pelo Diretor da Faculdade de Medicina.

No ato da inscrição, os candidatos deverão pagar a taxa de Cr$ 5.000,00 (cinco mil cruzeiros).

Informações e inscrições até o dia 30 de setembro, com o Dr. Raymundo Martins Castro, no Dep. de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina (Av. Dr. Arnaldo — Telefone: 80-8819).

Flagrante fotográfico da reunião havida no Instituto de Medicina Tropical para festejar o lançamento do primeiro número da Revista, quando falava o Dr. Luís Rey, seu Diretor responsável e editor.

APRESENTAÇÃO DO 1º NÚMERO DA REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Teve caráter festivo a apresentação desta Revista ao meio médico e científico de São Paulo, no dia 25 de junho próximo passado.

O Instituto de Medicina Tropical ofereceu naquela data um coquetel que contou com a participação de figuras do mais alto relêvo, destacando-se a presença do Exmo. Sr. Ministro da Saúde, Dr. Mário Pinotti, do Magnífico Reitor da Universidade de São Paulo, que representava também o Sr. Governador Carvalho Pinto, do Ministro Moura Rezende, Presidente do Tribunal de Contas, do Prof. Eurico Bastos, Diretor da Faculdade de Medicina, do Prof. Cantídio de Moura Campos, Diretor Clínico do Hospital das Clínicas, do Prof. Ayroza Galvão, Diretor da Faculdade de Higiene e Saúde Pública, e de destacados membros do corpo docente da Universidade, instituições médicas e serviços de saúde. Estudantes de medicina, representantes das indústrias farmacêuticas e da imprensa também compareceram ao ato.

Como parte da solenidade, fizeram uso da palavra, na ocasião, o Prof. Carlos da Silva Lacaz, Diretor do Instituto, o Dr. Luís Rey, Diretor-Responsável e Editor da Revista, o Magnífico Reitor e o Ministro Mário Pinotti, que destacou os trabalhos já realizados pelo recém-fundado Instituto e o importante papel reservado à Revista do Instituto de Medicina Tropical no cenário científico do país.

Na mesma ocasião foi inaugurada a biblioteca do Instituto e ofertado a êste um busto de Oswaldo Cruz pelo Dr. Rogério Lacaz, autor do apreciado trabalho.

PRÊMIO DE MEDICINA TROPICAL

É o seguinte o regulamento do Prêmio Ciba, de Medicina Tropical, recentemente criado:

Art. 1 — O prêmio Ciba, de Medicina Tropical, é oferecido anualmente, a partir de 1959, e por cinco anos sucessivos, pela "Produtos Químicos Ciba S.A." ao Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, para que êste o conceda ao Autor ou Autores do melhor trabalho sôbre temas de medicina tropical, uma vez que o mesmo satisfaça as exigências dêste Regulamento.

Art. 2 — Poderão concorrer ao referido prêmio trabalhos escritos ùnicamente por médicos brasileiros.

Art. 3 — O valor do prémio é de Cr$ 50.000,00 (cinqüenta mil cruzeiros), deven-

Na mesma ocasião, o Ministro Mário Pinotti, que honrou a Revista com sua presença, recebe as homenagens do representante dos acadêmicos de Medicina.

do o mesmo ser entregue em sessão solene do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, acompanhado de um diploma assinado pelos membros do Conselho Administrativo do Instituto.

Art. 4 — Os membros da Comissão Julgadora serão os professôres das Clínicas de Doenças Tropicais e Infectuosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, da Faculdade Nacional de Medicina e da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte.

Art. 5 — Até o dia 15 de janeiro, os trabalhos que concorrem ao prêmio deverão ser inscritos e aceitos na sede do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Caixa Postal 2921 — São Paulo — Brasil).

Art. 6 — A Comissão Julgadora terá o prazo de 2 meses para emitir seu parecer sôbre a concessão do prêmio.

Art. 7 — Cada membro da Comissão Julgadora dará individualmente o seu parecer, em duas vias.

Art. 8 — Não caberá qualquer recurso ao parecer da Comissão Julgadora.

Art. 9 — O Diretor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo será árbitro supremo para decidir as dúvidas surgidas na interpretação dêste Regulamento ou resolver qualquer dificuldade em sua execução.

Art. 10 — Os trabalhos concorrentes ao prêmio poderão ser individuais ou em colaboração, mas deverão ser inéditos, escritos em português e datilografados em espaço duplo.

§ 1 — Cada trabalho deverá ser assinado sob pseudônimo e acompanhado de sobrecarta fechada, contendo o nome do Autor ou Autores e o título do trabalho.

§ 2 — No ato de entrega de cada trabalho, ao seu portador será fornecido um recibo.

§ 3 — De posse dos pareceres da Comissão Julgadora, a Direção do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo abrirá exclusivamente a sobrecarta com o pseudônimo do vencedor ou dos vencedores.

Art. 11 — A prioridade para a publicação do trabalho vencedor caberá, pelo prazo de 6 meses, à "Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo".

Art. 12 — O Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e "Produtos Químicos Ciba S.A." darão, com a devida antecedência, ampla divulgação a todos os centros médicos do país, da concessão dêsse prêmio, destinado a incentivar, em nosso meio, as investigações clínicas e experimentais sôbre os temas de patologia tropical.

VISITAS AO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Dentre as personalidades que o Instituto teve a satisfação de receber como visitantes, nestes últimos meses, pudemos assinalar as seguintes:

— Prof. W. W. Frye, da Louisiana State University, tendo efetuado uma conferência no Hospital das Clínicas (Serviço do Prof. João Alves Meira) sôbre "Antibióticos em Doenças Tropicais", no dia 14-7-1959.

— Prof. J. Fraga de Azevedo, Diretor do Instituto de Medicina Tropical de Lisboa. O Instituto se fêz representar na conferência do Prof. Fraga de Azevedo, efetuada na Casa de Portugal no dia 15-7-1959, sob o título: "Resultados da luta contra a doença do sono no Ultramar português".

— Dr. Robert G. Yaeger, da Tulane University.

— Dr. John Schneidau Jr., da Tulane University, com estágio de 7 dias na Secção de Micologia da Faculdade de Medicina.

— Dr. Harry Seneca, Professor de Medicina Interna da Columbia University.

— Prof. Hubert Bloch, Professor de Microbiologia da Universidade de Pittsburgh.

— Prof. Saul Adler, Professor de Parasitologia da Universidade Hebraica de Jerusalém, Israel.

— Prof. Francesco M. Chiancone, dos Laboratórios Lepetit, de Milão.

JORNADA SÔBRE MEGAESÔFAGO E MEGACOLO

O Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, em colaboração com a Academia de Medicina de São Paulo, a Sociedade de Gastroenterologia e a Associação Paulista de Medicina, promoverá, de 16 a 18 de setembro próximo, uma "Jornada sôbre Megaesôfago e Megacolo", com a finalidade de ser focalizado, em todos os seus aspectos, um dos temas de maior interêsse para o nosso meio.

As sessões serão efetuadas à noite (20,30 horas), na sede da Associação Paulista de Medicina, obedecendo ao seguinte programa:

Dia 16 — Abertura do curso pelo Prof. Carlos da Silva Lacaz, Diretor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo;

1 — *Aspectos clínicos:* Jairo Ramos e Alípio Corrêa Netto;

2 — *Aspectos radiológicos:* Luiz Carlos da Fonseca, Eduardo Cotrim e Walter Bonfim Pontes;

3 — *Aspectos endoscópicos:* Plínio Mattos Barreto, J. A. Arruda Botelho e Angelino Manzione;

4 — *Comentador:* Paulo de Almeida Toledo.

Dia 17 — 5 — *Etiopatogenia e fisiopatologia:* José Fernandes Pontes, Agostinho Bettarello e Primo Curti;

6 — *Anatomia patológica:* Moacyr Amorim;

7 — *Comentadores:* Fritz Köberle e Thales de Brito.

Dia 18 — 8 — *Aspectos epidemiológicos:* José L. Pedreira de Freitas e José O. Coutinho;

9 — *Conduta terapêutica:* Edmundo Vasconcellos, Daher Cutait, Ruy Ferreira Santos, Virgílio Carvalho Pinto e Arrigo Raia;

10 — *Comentador:* Eurico da Silva Bastos.

CURSO DE ENTOMOLOGIA REALIZADO EM LONDRES, SOB O PATROCINIO DA O.M.S.

Realizou-se na Escola de Higiene e Medicina Tropical da Universidade de Londres, em abril dêste ano, sob o patrocínio da Organização Mundial da Saúde, um "Curso de Técnicas Entomológicas Avançadas Aplicadas à Erradicação da Malária".

O principal assunto do Curso foi o estudo teórico e prático de métodos de determinação da idade de anofelinos e outros dípteros de importância médica, com aulas ministradas pela Dra. Tatiana Sergeevna Detinova, do Instituto de Malária, Parasitologia Médica e Helmintologia, de Moscou. Outros itens do programa incluíram técnicas de criação de mosquitos, determinação da fonte de repasto sanguíneo de insetos, resistên-

cia aos inseticidas e genética aplicada, tendo como professôres os cientistas G. Macdonald, G. Davidson, C. E. Jackson, Winifred Wall e P. F. Mattingly, da citada Escola ou do Museu Britânico.

Os 19 entomologistas que participaram dêsse curso internacional provinham do Brasil, Ceilão, Egito, Filipinas, Formosa, França, Grã-Bretanha, Grécia, Índia, Madagascar, México, Nepal, Tanganica e Venezuela. O representante brasileiro foi o Dr. Leonidas M. Deane, Docente-Livre e Assistente da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, presentemente cooperando na Campanha de Erradicação da Malária do Ministério da Saúde.

PROFESSÔRES BRASILEIROS PARA A UNIVERSIDADE DE CARABOBO (VENEZUELA)

A Faculdade de Medicina da Universidade de Carabobo, recém-instalada na cidade de Valência (Venezuela), contratou no Brasil dois professôres para organizar os cursos básicos de Parasitologia e Microbiologia.

O Prof. Antônio Dácio Franco do Amaral, Catedrático de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e membro do Conselho Administrativo do Instituto de Medicina Tropical, irá reger a cadeira correspondente da nova Faculdade do país irmão.

A cadeira de Microbiologia contará com a experiência do Prof. Floriano de Almeida, nome sobejamente conhecido por seus trabalhos de micologia médica.

NOVOS DOCENTES DA UNIVERSIDADE

Na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, acabam de conquistar o título de Docente-Livre os Drs. Vicente Amato Neto e José Ferreira Fernandes.

A tese do Dr. J. Ferreira Fernandes versou sôbre "Biossíntese de purinas em *Trypanosoma cruzi*", sendo defendida perante uma banca de bioquímicos que lhe conferiu o título de Docente-Livre em Química Biológica.

O Dr. Amato Neto, Docente-Livre da Cadeira de Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas, defendeu tese com uma monografia intitulada: "Contribuição ao conhecimento da forma aguda da doença de Chagas".

FALECIMENTOS

Prof. José Manoel Ruiz

No dia 28 de maio passado, faleceu com a idade de 46 anos o Dr. José Manoel Ruiz, professor adjunto da Cadeira de Zoologia e Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo.

Sua morte prematura veio interromper uma carreira de profícua atividade no campo da parasitologia, onde tinha publicado meia centena de trabalhos, principalmente sôbre helmintologia, entre os quais se incluem diversas espécies novas de trematódeos, estudos sôbre cercárias de trematódeos brasileiros, estudos sôbre outros grupos de helmintos e sôbre ofídios.

Últimamente vinha trabalhando em esquistossomose experimental e em sistemática de planorbídeos brasileiros.

Era biologista do Instituto Butantã, Secção de Parasitologia e Presidente da Sociedade de Zoologia e Parasitologia de São Paulo.

Prof. José Maria Gomes

Faleceu no dia 12 de junho, em São Paulo, o Dr. José Maria Gomes, professor da cadeira de Venereologia e Leprologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Constituiu o passado do Prof. José Maria Gomes uma lição brilhante de trabalho e dedicação à Medicina do país, principalmente no setor sanitário. Dotado de grande entusiasmo pelos problemas médico-sociais, a êles dedicou grande parte de sua vida, tendo lutado intensamente pela humanização do trato ao doente de lepra e pela atualização das medidas sanitárias referentes a essa moléstia, de acôrdo com os princípios científicos modernos.

Foi êle o primeiro diretor do atual Departamento de Profilaxia da Lepra, tendo sido então criado, por sua sugestão, o primeiro dispensário para tratamento de hansenianos, medida considerada revolucionária na época dos leprosários, e hoje amplamente seguida.

Publicou o Prof. José Maria Gomes inúmeros trabalhos científicos, principalmente sôbre micologia médica e leprologia. Descreveu um caso novo de dermatite verrucosa, idealizou uma reação sorológica para o

diagnóstico da lepra, dedicou-se intensamente à tentativa do cultivo do bacilo de Hansen, fêz estudos sôbre a evolução dêsse bacilo, sôbre o tratamento da lepra, sôbre os fatôres predisponentes da moléstia e, particularmente, sôbre os seus aspectos sociais.

Destacou-se o Prof. José Maria Gomes pelos seus dotes de simplicidade e modéstia, aliados a uma grande bondade pessoal, o que não o impedia de lutar ardorosamente pelos seus ideais de justiça social e pela melhoria das condições de vida de nosso povo.